



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE FUROESPIROSTANOS
A PARTIR DE SAPOGENINAS ESTEROIDALES**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

JACQUELINE SÁNCHEZ FLORES



MÉXICO, D.F.

AÑO 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	Profesora: Rosa Luz Cornejo Rojas
VOCAL	Profesor: Blas Flores Pérez
SECRETARIO	Profesor: Martín Andrés Iglesias Arteaga
1er. SUPLENTE	Profesor: Héctor García Ortega
2do. SUPLENTE	Profesora: Nayeli López Balbiaux

El presente tema fue desarrollado en el laboratorio 201 de la Unidad de Posgrado, edificio B de la Facultad de Química, Ciudad Universitaria.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Martín A. Iglesias Arteaga

SUPERVISOR TÉCNICO:

M. en C. Margarita Romero Ávila

SUSTENTANTE:

Jacqueline Sánchez Flores

*“Los hombres y pueblos en decadencia viven acordándose de dónde vienen;
los hombres geniales y pueblos fuertes sólo necesitan saber a dónde van”.*

José Ingenieros

*“Intenta no volverte un hombre de éxito,
sino volverte un hombre de valor”.*

Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

A todos aquellos seres y personas que con su granito, o sus toneladas de arena, han contribuido día a día con mi desarrollo profesional, personal, social y espiritual.

Gracias a todos ustedes familiares, maestros, compañeros, amigos y más que amigos por compartir conmigo sus conocimientos, sus enseñanzas, sus pensamientos, su ideología, su experiencia, su tiempo, su paciencia, su espacio, sus momentos, sus éxitos y derrotas, sus alegrías y tristezas, su elocuencia y su locura, mi total y sincero agradecimiento por ese montón de cosas más con las cuales me quedo un pedacito de su vida para seguir construyendo la mía.

Gracias a la máxima casa de estudios Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Química y muy especialmente a los integrantes del 201 por permitirme ser parte de su gran familia, “orgullosamente UNAM”.

Mi total agradecimiento al Dr. Martín Iglesias, quien me permitió ser parte de su grupo de trabajo y aún más por sus enseñanzas de vida, amistad y apoyo incondicional.

Para ti “María bonita”, mi madre, que no dudaste, ni un segundo, de mi capacidad para poder cumplir con esta meta y con las que me aguarden, gracias por ser el máximo pilar que hay en mi vida.

INDICE

1. Introducción.	6
2. Objetivos.	7
3. Hipótesis.	7
4. Antecedentes.	8
4.1 Esteroides.	9
4.1.1. Generalidades.	9
4.2 Sapogeninas esteroidales (SE).	13
4.2.1. Definición.	13
4.2.2. Fuentes naturales y aislamiento.	15
4.2.3. Biogénesis.	18
4.2.4. Características estructurales.	19
4.2.5. Cadena lateral espirocetálica.	20
4.2.6. Reactividad de la cadena lateral.	22
4.2.6.1. Reacciones típicas de sustitución en C ₂₃ de SE.	24
4.2.6.2. Reacciones de reordenamiento del anillo F de SE.	26
4.2.7. Caracterización espectroscópica de SE.	29
4.2.8. Actividad biológica de derivados esteroidales.	31
5. Reactivos.	33
6. Desarrollo experimental y resultados.	35
6.1. General.	36
6.2. Síntesis de (25 <i>R</i>)-3β-acetoxi-5-en-espirostan-23-ona (57).	36

6.3. Síntesis de (22 <i>S</i> ,23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3 β ol (58).	38
6.4. Síntesis de (22 <i>S</i> ,23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3 β -ol (59).	39
6.5. Síntesis de (25 <i>R</i>)-3 β -ol-5-en-espirostan-23-ona (60).	40
6.6. Síntesis de (25 <i>R</i>)-3 β -acetoxi-5 α -espirostan-23-ona (61).	41
6.7. Síntesis de (22 <i>S</i> ,23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5 α -furostan-3 β -ol (62).	41
6.8. Síntesis de (22 <i>S</i> ,23 <i>R</i> ,25 <i>R</i>)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5- α -furostan-3 β -ol (63).	42
6.9. Síntesis de (25 <i>R</i>)-3 β -ol-5 α -espirostan-23-ona (64).	43
7. Discusión de Resultados.	45
7.1. Metodología general para la transformación de la cadena lateral de los acetatos de diosgenina y tigogenina.	46
8. Conclusiones.	52
9. Bibliografía.	54
10. Anexos.	62

INTRODUCCIÓN

Hasta mediados del siglo pasado el uso farmacológico de compuestos esteroidales era inasequible para gran parte de la población por su alto valor comercial y difícil obtención.¹

El descubrimiento de sapogeninas esteroidales (**SE**) y su uso como precursores de hormonas sexuales sintéticas, corticoesteroides, diuréticos, anticonceptivos, ecdisteroides, brasinoesteroides y más recientemente cefalostatinas permitió la producción de algunos de estos compuestos a gran escala.

Actualmente el estudio de SE y la modificación en su estructura han dado lugar a la producción de nuevos compuestos con mejores propiedades farmacológicas, mediante rutas sintéticas menos complejas y de menor costo.

La química de la cadena lateral de las SE ha sido intensamente estudiada durante el último siglo. Trabajos publicados recientemente han establecido las bases para continuar la investigación en esta área. Se ha encontrado que derivados de SE con la cadena lateral modificada presentan actividad biológica interesante.

Es por ello que el presente trabajo está dirigido a la síntesis y caracterización de furoespirostanos derivados de 23-oxosapogeninas, contribuyendo al estudio de nuevas transformaciones de la cadena lateral de SE para la obtención de compuestos potencialmente bioactivos.

OBJETIVO GENERAL

- Síntesis y caracterización de furoespirostanos, derivados de SE con cadenas laterales modificadas.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Introducción de modificaciones en el Anillo F de los acetatos de las SE tigogenina y diosgenina para la obtención de derivados con posible actividad biológica.
- Caracterización estructural de los derivados esteroidales obtenidos, utilizando técnicas de Resonancia Magnética Nuclear.

HIPÓTESIS

La modificación estructural de la cadena espirocetálica de sapogeninas esteroidales, partiendo de la funcionalización de la posición C-23, permitirá la obtención de derivados furoespiroestánicos análogos a SE que presentan importante actividad biológica.

ANTECEDENTES

4.1. ESTEROIDES

4.1.1. Generalidades

El nombre “esterol” (del griego *estéreos* = sólido) se refiere a los alcoholes sólidos obtenidos de la fracción insaponificable de los extractos lipídicos que abundan en tejidos de vegetales (fitosteroles (**1**)) y de animales superiores (como el colesterol (**2**)) (figura 1).¹

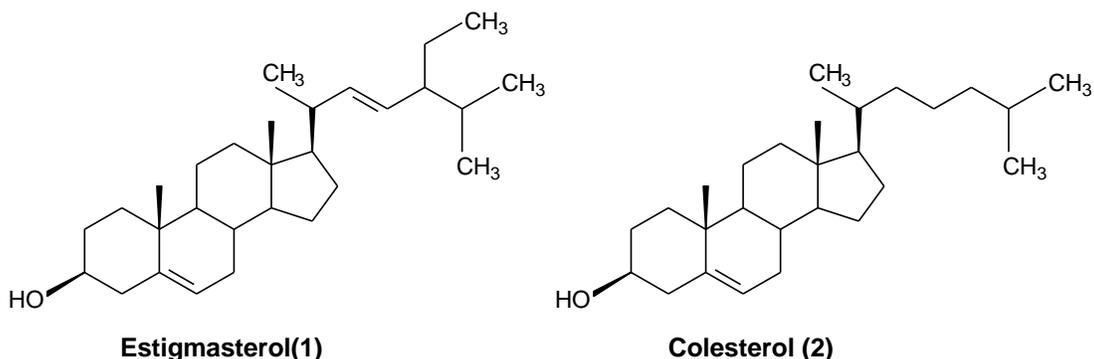


Figura 1. Esteroles de abundancia natural.

El término “esteroide” (*semejante al estero*) se introdujo en 1936 para definir a todos los compuestos que poseen un esqueleto del tipo de los esteroides.² Los esteroides son sustancias basadas en una estructura química compuesta de átomos de carbono e hidrógeno ordenados en un sistema de cuatro anillos unidos, que en conjunto reciben el nombre de *ciclopentanoperhidrofenantreno* (**3**). Cada ciclo se identifica con las letras A, B, C y D respectivamente y sus átomos de carbono se numeran de acuerdo a las reglas de nomenclatura para esteroides, establecidas por la IUPAC en el año 1957 (figura 2).^{3,4,5}

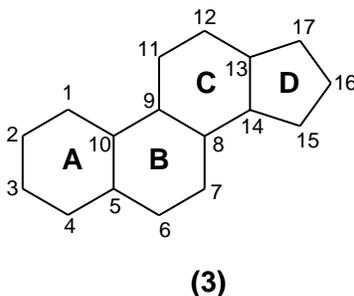


Figura 2. *Ciclopentanoperhidrofenantreno*. Núcleo característico de esteroides.

Generalmente las fusiones de los anillos A:B, B:C y C:D en el sistema policíclico presentan configuración *trans* (serie 5 α) (4), sin embargo, aunque con menor frecuencia, también se han encontrado una serie de compuestos en los que la fusión de los anillos A:B posee configuración *cis* (serie 5 β) (5) (figura 3).^{3,4}

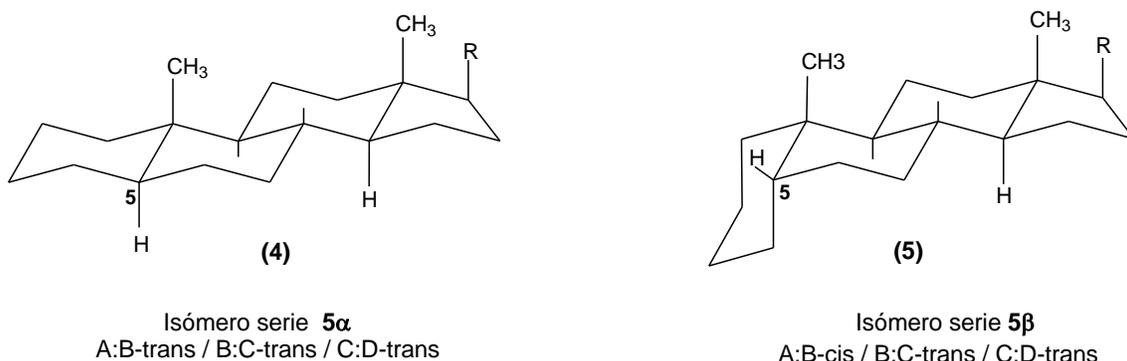


Figura 3. Sistemas básicos de anillos en las series 5 α y 5 β de los esteroides.

Los átomos 18 y 19, que sobresalen del plano general del sistema de anillos, están enlazados como grupos metilo angulares (CH₃) a las posiciones C-13 y C-10 respectivamente.⁴ Prácticamente todos los esteroides naturales contienen funciones oxigenadas en la posición C-3 (α o β), que pueden corresponder a un grupo hidroxilo (OH) o a un grupo carbonilo (C=O) 3-oxo-esteroides.⁶

Miles de compuestos naturales y sintéticos presentan la estructura química anteriormente descrita, aunque con pequeñas variaciones. Comúnmente algunos átomos de hidrógeno son reemplazados por otro átomo o grupo de átomos, o por dobles enlaces situados en diversas posiciones del núcleo esteroidal.

Las variaciones estructurales que alteran la constitución química de los compuestos esteroidales, determinan sus propiedades físicas y químicas, su reactividad y su interacción específica con receptores hormonales y enzimas, produciendo comportamientos biológicos distintos.^{1,6}

Al igual que otros compuestos naturales, los esteroides tienen nombres comunes que reflejan su origen biológico o alguna circunstancia particular. Las hormonas sexuales masculinas (6) y femeninas (7), las hormonas adrenocorticales (8), (9), la vitamina D (10), los ácidos biliares (2), (11), los esteroides cardioactivos (12), y las sapogeninas esteroideas (13) son ejemplos de esteroides naturales de gran importancia biológica (Figura 4).^{2,7}

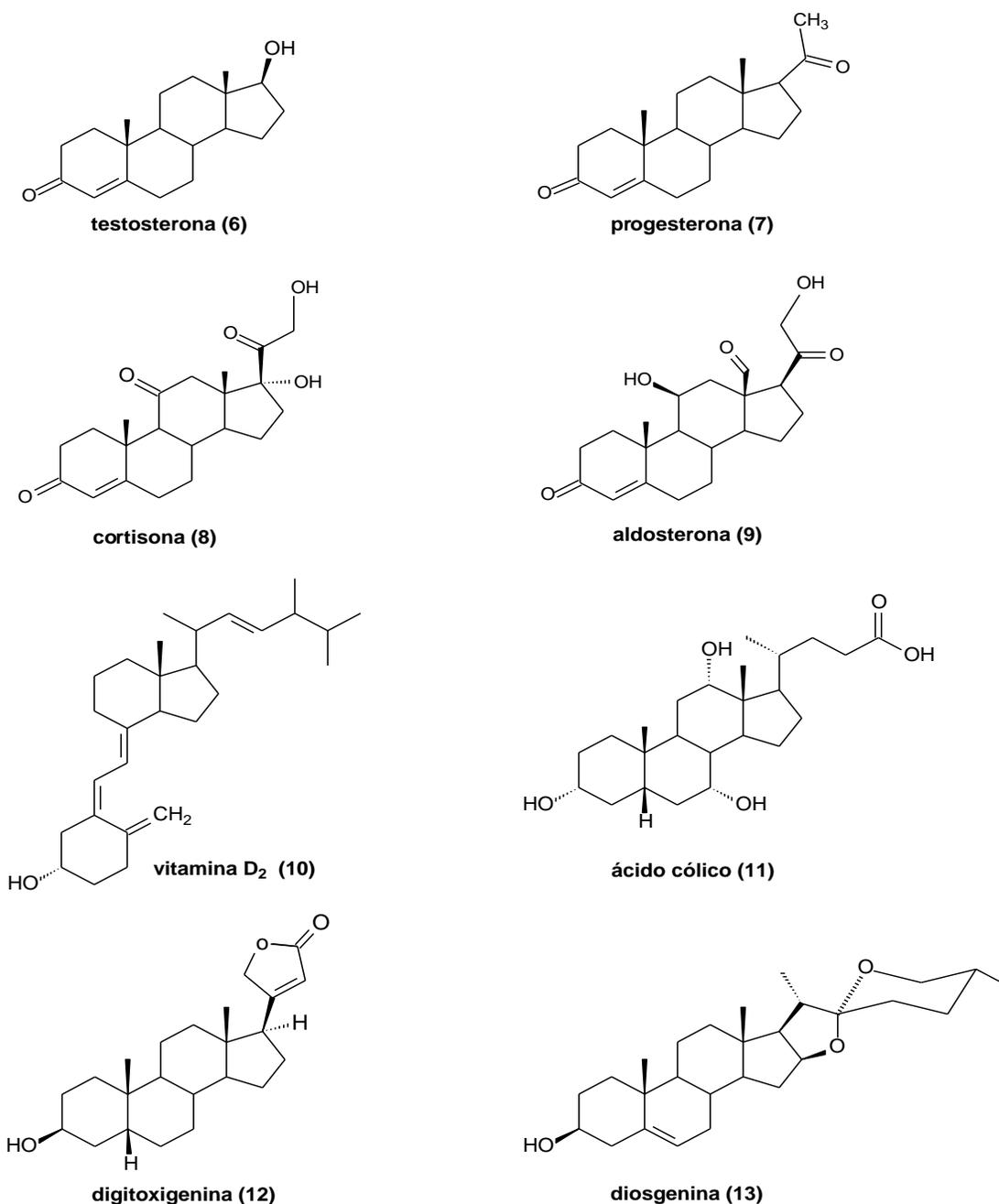
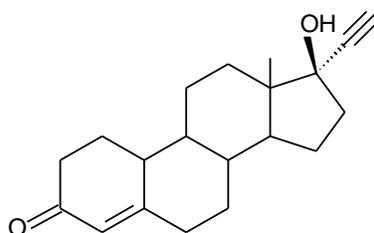


Figura 4. Algunos esteroides naturales de importancia biológica.

Otro importante grupo de esteroides está constituido por los de origen sintético, dentro de los cuales se encuentran los anticonceptivos orales, como la noretisterona (14) sintetizada por primera vez en 1951 por Miramontes, Djerassi, y Rosenkranz en la Compañía Sintex S.A. en la ciudad de México (figura 5).¹



Noretisterona (14)

Figura 5. Primer anticonceptivo oral sintetizado.

4.2. SAPOGENINAS ESTEROIDALES

4.2.1. Definición

Las sapogeninas esteroidales son un grupo muy importante de sustancias que se encuentran en la naturaleza en forma de glicósidos (saponinas).

Las saponinas existen en diversas plantas y forman abundante espuma cuando son agitadas en disoluciones acuosas, de ahí la denominación de saponinas (del latín *sapo*= jabón).⁸ Están constituidas por dos partes estructuralmente muy diferentes; una parte de sapogenina (aglicón) y otra parte de azúcar (1 a 5 unidades de monosacáridos; las más comunes: glucosa, galactosa, ramnosa, arabinosa y xilosa) enlazada mediante un enlace β -glicosídico al carbono 3 de la sapogenina (figura 6).^{9,10}

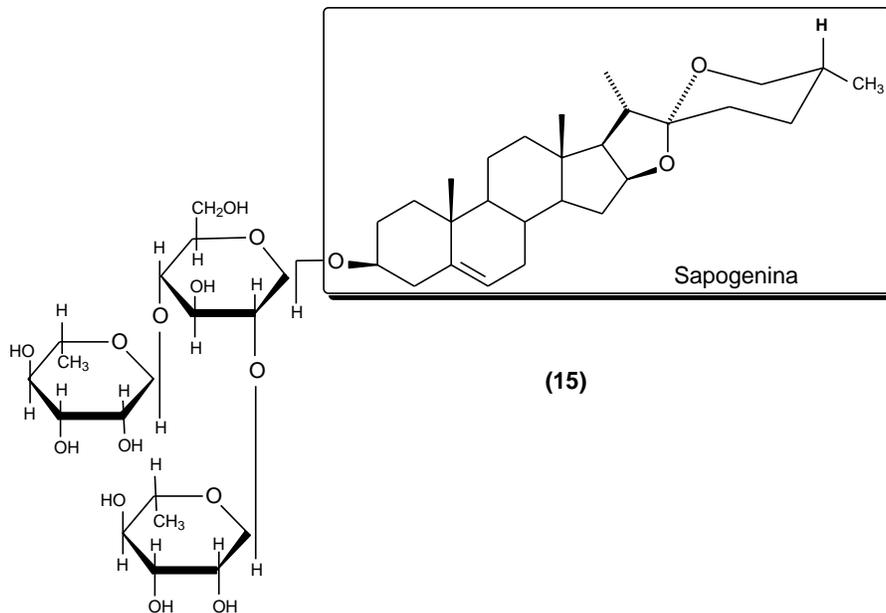


Figura 6. Estructura completa de la saponina esteroidal, ***dioscina***.¹¹

Debido a que las saponinas se encuentran como mezclas de alto peso molecular, su caracterización y aislamiento presenta ciertas dificultades, por ello, las mezclas crudas se someten a hidrólisis (ácida o enzimática) para obtener uno o varios azúcares y a la sapogenina en su forma libre (Figura 7, Tabla 1).⁸ La reactividad química de ambas partes ha sido estudiada extensamente.

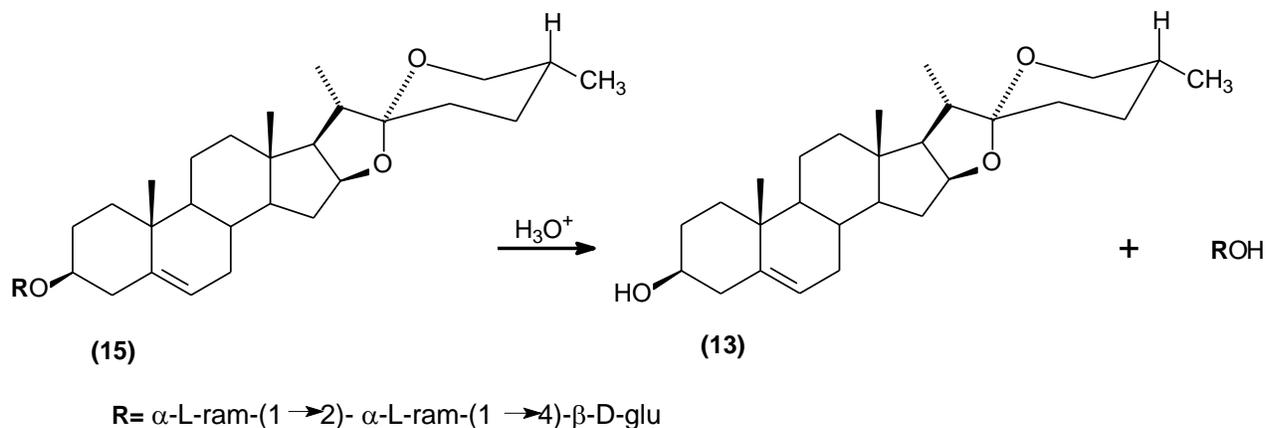


Figura 7. Obtención de diosgenina (13) a partir de la hidrólisis ácida de dioscina.

Algunos ejemplos de saponinas esteroidales, sus correspondientes azúcares y sapogeninas, se muestran a continuación (Tabla 1).

Tabla 1. Saponinas y sapogeninas esteroidales.⁸

Saponina	Sapogenina	Azúcar
dioscina $C_{45}H_{72}O_{16}$	diosgenina (13) $C_{27}H_{42}O_3$	(2) ramnosa (1) glucosa
trillarina $C_{39}H_{64}O_{13}$	diosgenina (13)	(2) glucosa
trillina $C_{33}H_{52}O_8$	diosgenina (13)	(1) glucosa
tigonina $C_{56}H_{92}O_{27}$	tigogenina (21) $C_{27}H_{44}O_3$	(2) glucosa (2) galactosa (1) xilosa
amolonina $C_{63}H_{104}O_{31}$	tigogenina (21)	(3) glucosa (1) galactosa (2) ramnosa
sarsasaponina $C_{45}H_{74}O_{17}$	sarsasapogenina (23) $C_{27}H_{44}O_3$	(2) glucosa (1) ramnosa

4.2.2. Fuentes naturales de sapogeninas útiles para la síntesis de fármacos esteroidales.

Las sapogeninas esteroidales están presentes en especies del reino vegetal marino y terrestre.⁷

Se ha demostrado su abundancia en plantas monocotiledóneas, especialmente en las familias *Dioscoreaceae* (por ejemplo, *Dioscorea spp.*) (figura 8), *Liliaceae* (*Yucca* y *Trillium spp.*) y *Amaryllidaceae* (*Agave spp.*), además, en familias de dicotiledóneas como *Solanaceae* (*Solanum spp.*), *Smilacaceae* (*Smilax spp.*) y *Simarubaceae*.¹²

Algunas otras familias como *Strophantus* y *Digitalis*, contienen tanto saponinas esteroidales como glicósidos cardiacos (saponinas con actividad cardiotónica).¹⁰



Figura 8. *Dioscorea tokoro Makino*

Sin duda, la más empleada^{10, 14} y abundante de todas las sapogeninas esteroidales es la diosgenina (**13**), encontrada en grandes cantidades en el rizoma de diversas plantas de la especie *Dioscorea*. La diosgenina fue aislada por primera vez en 1936 por Tsukamoto et. al.^{12,13} de *Dioscorea tokoro Makino* (Figura 8). Más tarde, en 1940, Marker la obtuvo en mayores rendimientos de alrededor de 400 especies de plantas provenientes de México y del Sur de los Estados Unidos.¹⁵ Entre estas especies se

encuentran la *Dioscorea villosa*, *Dioscorea quartenata*, *Dioscorea hirticaulis*,¹⁶ *Dioscorea mexicana* (barbasco),¹⁷ *Dioscorea bulbífera*, *Dioscorea lobata*, *Dioscorea Galeottiana*, *Nolina erumpens*, *Nolina grenni*, *Balanites aegyptica*, entre otras.^{18,19}

La conversión de las sapogeninas esteroidales en esteroides con actividad farmacológica se inició a partir de que Marker, en 1940, propuso la ruta sintética para la degradación de su cadena lateral (figura 9).¹⁴

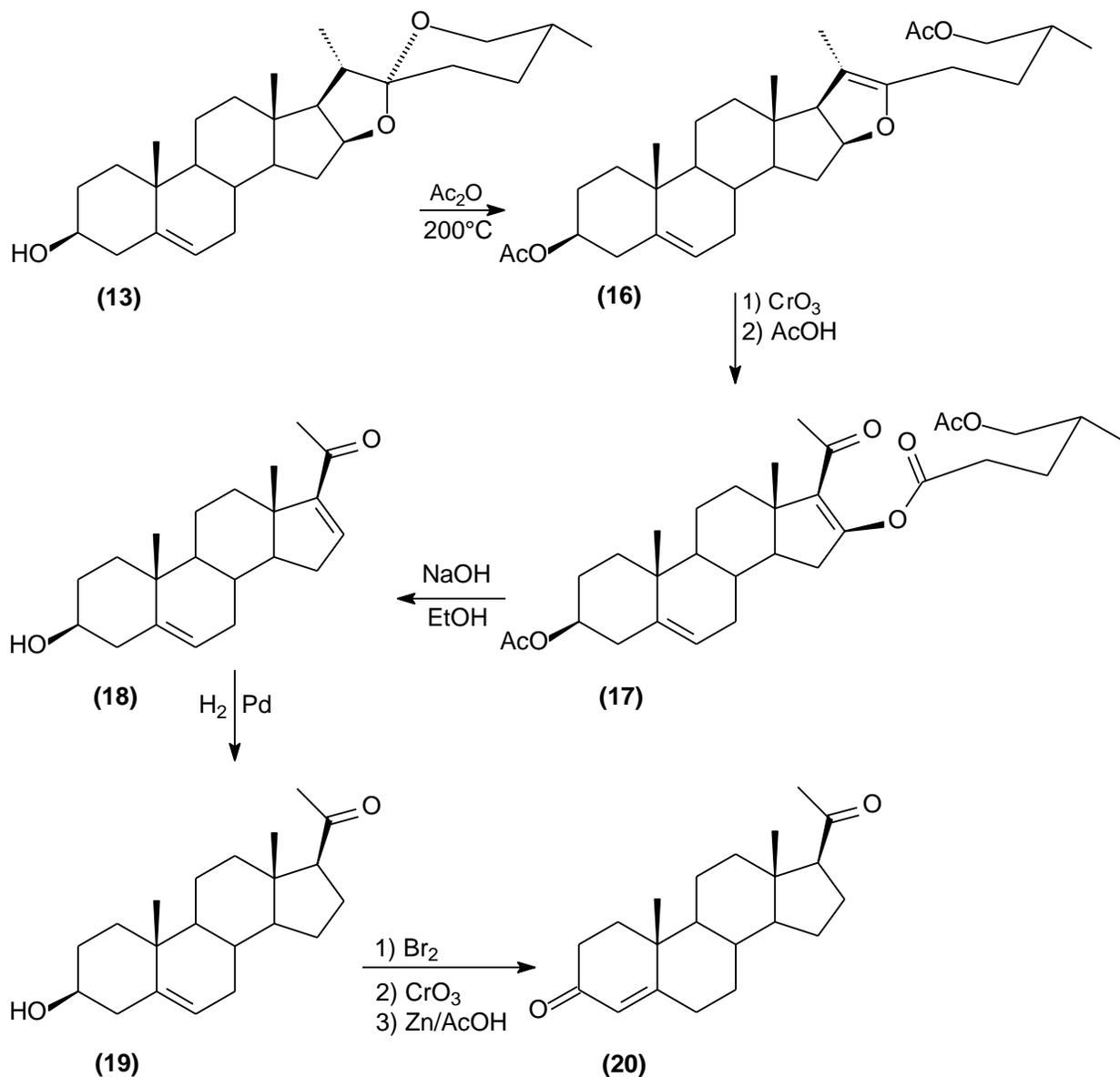


Figura 9. Degradación de Marker. Síntesis de progesterona (20) a partir de diosgenina (13).

Otras sapogeninas esteroidales de gran importancia sintética son la tigogenina (**21**) aislada, principalmente, de *Chlorogalum pomeridianum*, *Digitalis lanata* y *Digitalis purpúrea*; la hecogenina (**22**), que en un principio fue aislada de dos especies de la familia *Bromeliaceae* (*Hechtia texensis*) y más tarde de numerosas especies de *Agaves* (*Sisal spp.*); la sarsasapogenina (**23**) aislada de *Yucca schottii* y *Radix sarsaparillae* y la esmilagenina (**24**) extraída de *Smilax ornata* (figura 10).^{8,15}

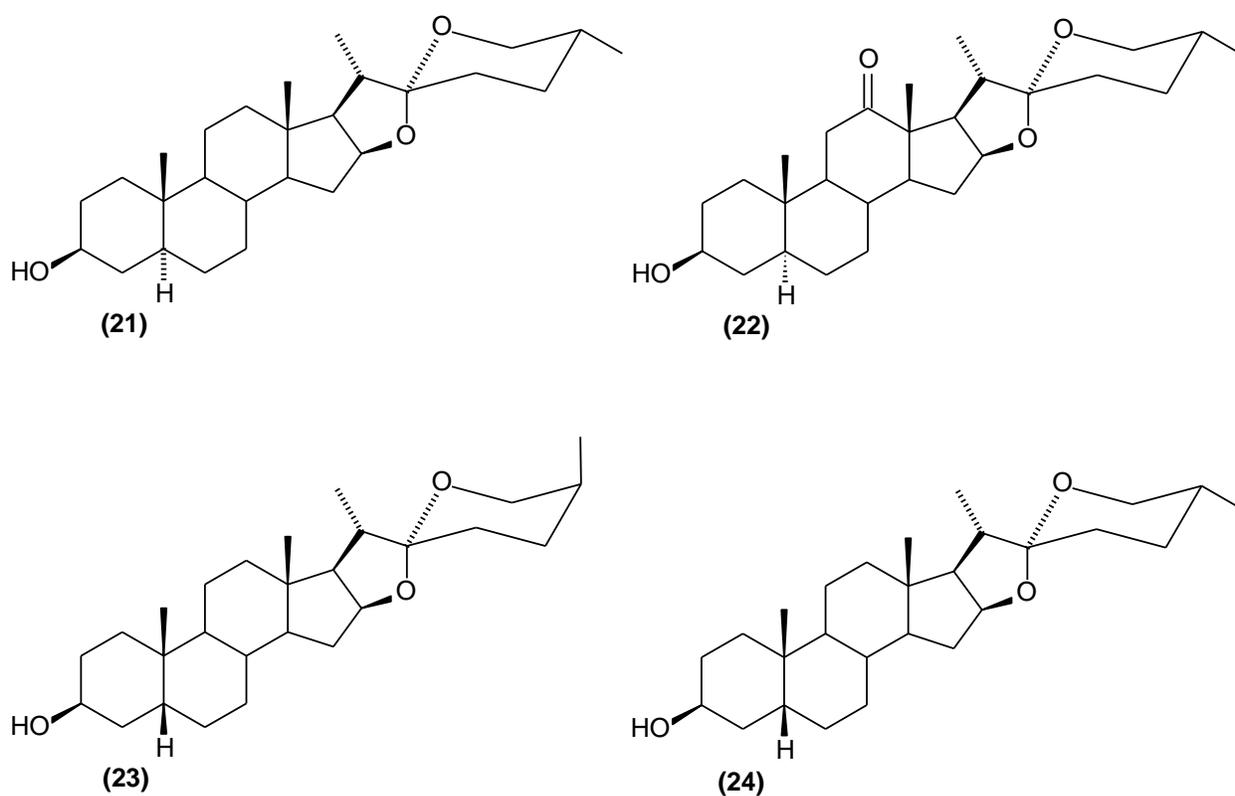


Figura 10. Sapogeninas esteroidales de importancia sintética.

Otras fuentes de donde se han aislado sapogeninas esteroidales incluyen insectos, hongos y organismos marinos.²⁰

4.2.3. Biogénesis de Sapogeninas esteroidales

Aunque no se conoce detalladamente el proceso que da origen a las sapogeninas esteroidales, varios informes sitúan al colesterol como intermedio en la cadena biosintética de varias de ellas.^{7,8} El colesterol puede ser incorporado a diversas sapogeninas por la vía del ácido mevalónico. En 1969 Joly et. al.²¹ y Varma et. al.²² demostraron que la *Dioscorea floribunda* y la *Digitalis samen* incorporan colesterol en la ruta biosintética de la diosgenina y tigogenina respectivamente²³ y en 1971 Tomita y colaboradores establecieron los cinco intermediarios involucrados en la biosíntesis de las sapogeninas diosgenina, yonogenina y tokorogenina (Figura 11).²³

Ácido mevalónico → cicloartenol → colesterol → (25R)-coles-5-en-3β,16β,26-triol → (25R) colest-5-en-3β,16β 22ε, 26-tetraol → diosgenina → yonogenina → tokorogenina.

Figura 11. Ruta biosintética de sapogeninas esteroidales propuesta por Tomita y colaboradores.

4.2.4. Características estructurales

Las sapogeninas esteroidales, de acuerdo a la estructura de su cadena lateral, son derivados de colestano (**25**), furostano (**26**), espiroestano (**27**) o furoespiroestano (**28**) (figura 12).²⁴

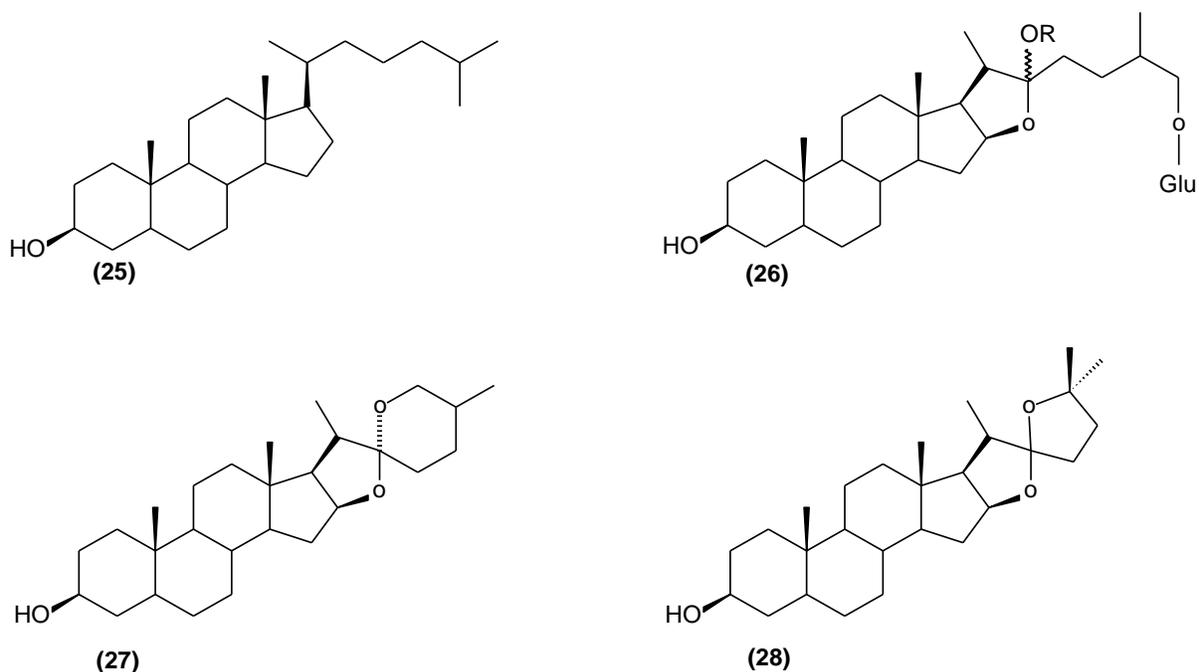


Figura. 12 Estructuras típicas de sapogeninas esteroidales.

Los compuestos (**27**) y (**28**), cuya cadena lateral está formada por un sistema de anillos oxigenados (E y F), unidos a través de un puente cetálico que involucra las posiciones C₁₆, C₂₂ y C₂₆ (espirocetal (**29**)), representan las estructuras más comunes en que las sapogeninas esteroidales son encontradas en estado natural, sin embargo, aunque menos frecuentes, también se les encuentra en las formas (**26**) y (**25**).²⁴

El sistema espirocetálico es el responsable de un amplio grupo de reacciones y características específicas de las SE, mientras que los restantes anillos A, B, C y D constituyentes del núcleo característico de los esteroides (**3**) les confieren las

propiedades físicas y de reactividad química derivadas de su estructura y funcionalidad (figura 13).⁷

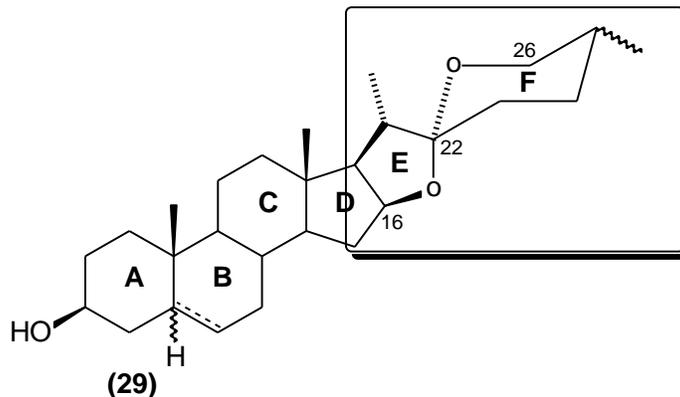


Figura 13. Estructura general de una sapogenina esteroidal espiroestánica. Cadena lateral.

La mayoría de sapogeninas esteroidales del tipo espiroestánico poseen una configuración de fusión de anillos B/C *trans*, C/D *trans* y D/E *cis*, mientras que el sistema de anillos A/B puede ser *cis*, *trans* (figura 3) o Δ^5 cuando presentan doble enlace en posición C-5→C-6.^{7,24}

4.2.5. Cadena lateral espirocetálica.

En 1939 Marker y Rohormann sugirieron la estructura espirocetálica de la cadena lateral de las sapogeninas esteroidales en base a los trabajos que realizaron con sarsasapogenina.²⁵

El término espiroestano tiene su origen en la disposición espacial que ocupa el anillo F de tipo tetrahidropiránico con respecto al anillo E de tipo tetrahidrofuránico. Estos dos anillos se encuentran dispuestos perpendicularmente debido a la hibridación sp_3 que posee el C-22, común para ambos anillos.^{17, 26}

Casi todas las sapogeninas esteroidales, aisladas hasta el momento, presentan configuración *S* y *R* en los carbonos 20 (con CH_3 -21 α -orientado)²⁴ y 22

respectivamente, cuando la posición C-23 no está sustituida y 20S, 22S para las sustituidas en dicho átomo.⁷

De acuerdo a la orientación axial (menos estable) o ecuatorial del metilo-27, los estirostanos se agrupan en series 25S o 25R respectivamente. Siendo esta última, la configuración más abundante en sapogeninas esteroidales naturales.

Gran parte del estudio sobre sapogeninas esteroidales se enfoca en las transformaciones que pueden ocurrir en los sistemas generales de los anillos espirocetálicos (30), (31) y (32) (figura 14).²⁰

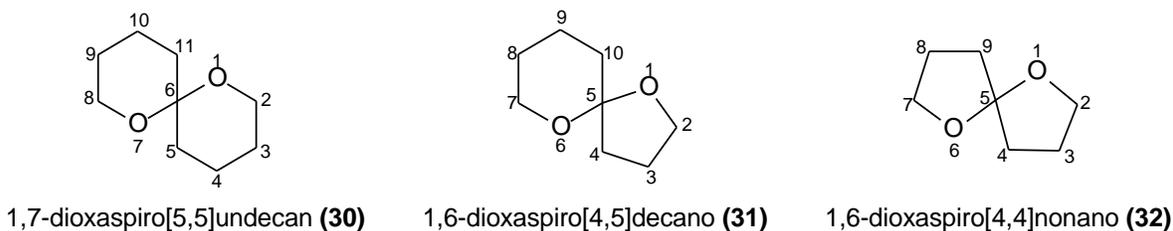


Figura 14. Sistemas espirocetálicos generales.

La estructura espirocetálica más común en sapogeninas esteroidales naturales es la del tipo 1,6-dioxaspiro[4,5]decano (31), sin embargo, también se han aislado algunas que poseen la cadena 1,6-dioxaspiro[4,4]nonano (furoestirostanos) (32), en cuyas estructuras ambos anillos (E y F) son de cinco miembros y el grupo metilo del C-25 es comúnmente sustituido.²⁷ Un ejemplo de este último grupo de sapogeninas esteroidales es la nautigenina (33) (figura 15), aislada por primera vez en Japón en 1982, de la especie *Solanum aculeatissimum*, considerada como una planta medicinal por su uso en el tratamiento de bronquitis y reumatismo.²⁷⁻²⁹

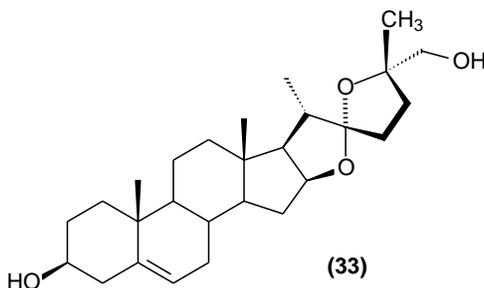


Figura 15. Nautigenina (33)

4.2.6. Reactividad de la cadena lateral.

La estereoquímica de las reacciones en SE resulta, con frecuencia, bastante compleja, ya que el impedimento estérico que presentan los grupos metilos angulares que se encuentran en la cara β de la molécula, influye fuertemente en ella. Muchos reactivos tienen preferencia para reaccionar con la cara α , que presenta un impedimento relativamente menor, en especial cuando la reacción tiene lugar muy cerca de un grupo metilo angular y cuando el reactivo de ataque es voluminoso.⁴

A mediados del siglo pasado, se dio importancia particular al estudio de la reactividad del sistema espirocetálico de las SE.³⁰

En un principio, se pensaba que la cadena lateral espirocetálica de las sapogeninas esteroidales era químicamente inerte, sin embargo, Marker y Rohrmann^{25,31} establecieron que esto sucede únicamente en medios neutros y alcalinos mientras que, bajo condiciones fuertemente ácidas los oxígenos de la cadena lateral son altamente reactivos, lo que produce la apertura reversible del sistema espirocetálico,³² dando como resultado la correspondiente protosapogenina **(34)** (figura 16).³³

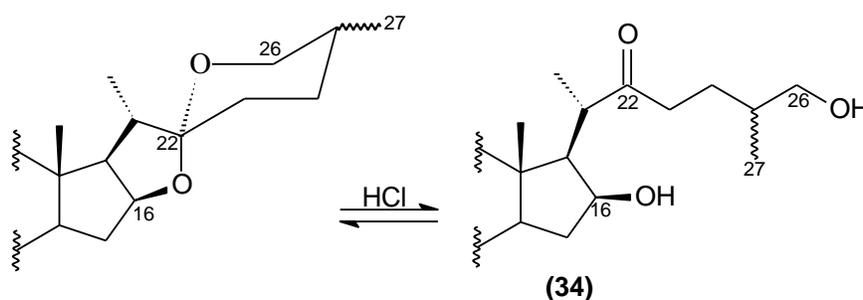


Figura 16. Apertura de la cadena lateral.³³

Se conoce que el sistema espirocetálico, en disolución, presenta un proceso de tautomerismo que implica la apertura reversible del anillo F, produciendo un equilibrio ceto-enólico en el que el sistema coexiste con sus formas enólicas **(38)** y **(39)**, las

cuales pueden ser atacadas por un electrófilo lo suficientemente fuerte, produciendo reacciones que incorporan sustituyentes a la posición C₂₃ (figura 17).⁷

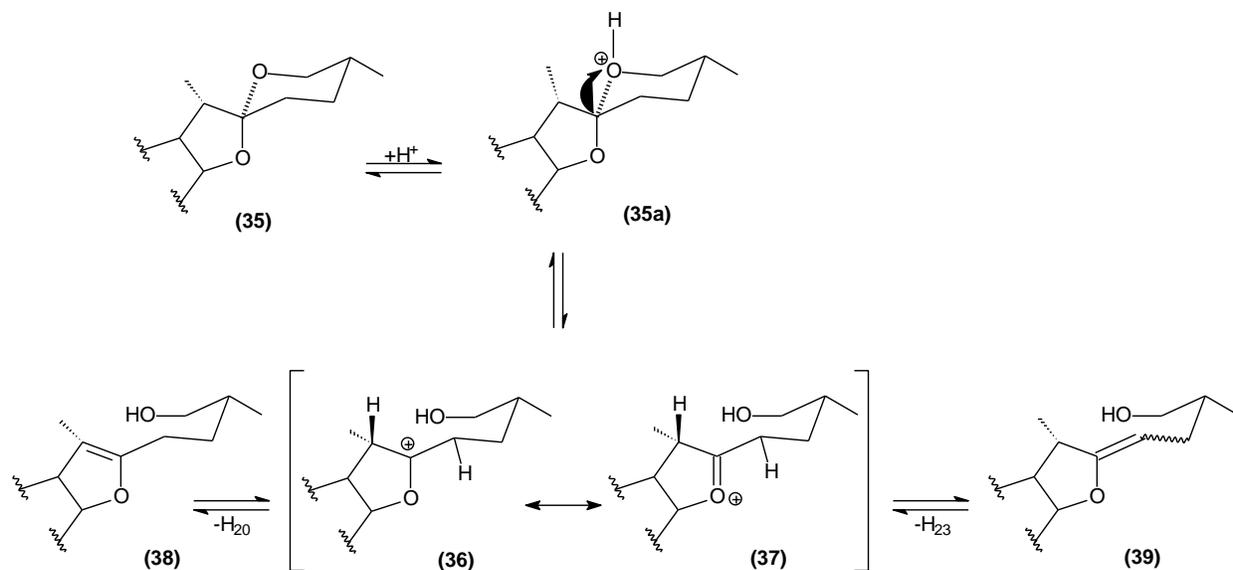


Figura 17. Tautomerismo ceto-enólico del sistema espirocetálico de saponinas esteroidales.⁷

El hecho de que el C₂₃ posea alta reactividad,³⁴ constituye la base para la transformación de la cadena lateral,³ ya que muchas reacciones pueden ser realizadas selectivamente en esta posición.³⁴

4.2.6.1. Reacciones típicas de sustitución en C₂₃ de SE.

Un gran número de transformaciones de espirostanos 23-sustituídos (23-oxo, 23-hidroxi, 23-iodo y 23-bromo derivados), incluyendo reordenamientos, fragmentaciones y otras modificaciones han sido recientemente descritas.³⁴ Algunas de ellas se describen a continuación (figura 18).

El tratamiento de acetatos de sapogeninas con trifluoruro de boro eterato y nitrito de sodio seguido de cromatografía en columna de alúmina (Brockmann actividad III) da lugar a la cetona (**40a**) y en menor cantidad a la lactona dinorcolánica (**40b**) correspondiente.³⁵ Cuando el compuesto (**40a**) es tratado con borhidruro de sodio en metanol se produce la correspondiente sapogenina 23-hidroxilada (**41**).³⁶

En 1966 Callow y colaboradores³⁷ informaron que el tratamiento de disoluciones ácidas de sapogeninas esteroidales con bromo, conduce a la formación de compuestos bromados en C₂₃ (**42**), obteniéndose los epímeros 23*S* (ecuatorial) y 23*R* (axial) y/o el compuesto 23-dibromado^{7,39,40}. En estudios realizados por Marker,⁴⁰ inicialmente se consideró que los dos posibles sitios de bromación eran el C₂₀ y C₂₃, ambos adyacentes al potencial grupo carbonilo C₂₂, sin embargo tras varios trabajos se estableció que el sitio que preferentemente se bromaba era el C₂₃.^{38,41}

Callow y colaboradores informaron, también, que el tratamiento de espirostanos de la serie 25*R* y 25*S* con cloruro de yodo a reflujo de cloroformo, produce la introducción diastereoselectiva de un átomo de yodo en la posición axial del C₂₃ (**43**).³⁷

En contribución a estos estudios, recientemente, se informó que al aplicar el método de Callow a sapogeninas esteroidales de la serie 25*R* (acetato de tigogenina) y 25*S* (acetato de sarsasapogenina), la primera produce los epímeros 23*S* y 23*R*-iodotigogenina (acetato), mientras que con el acetato de sarsasapogenina, se obtiene

únicamente el compuesto con el átomo de yodo en posición equatorial a C₂₃ (acetato de 23S-iodotigogenina).⁴²

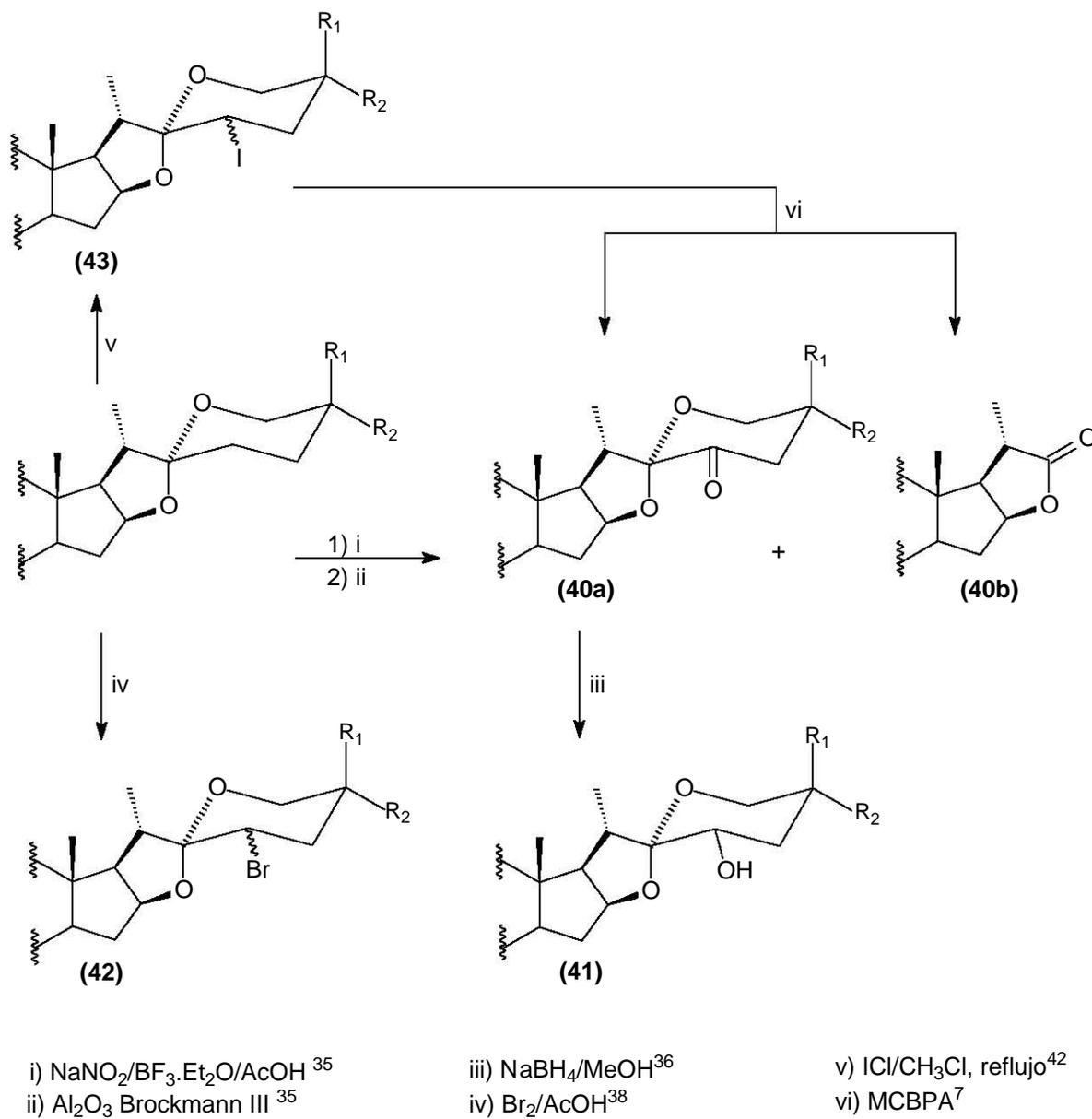


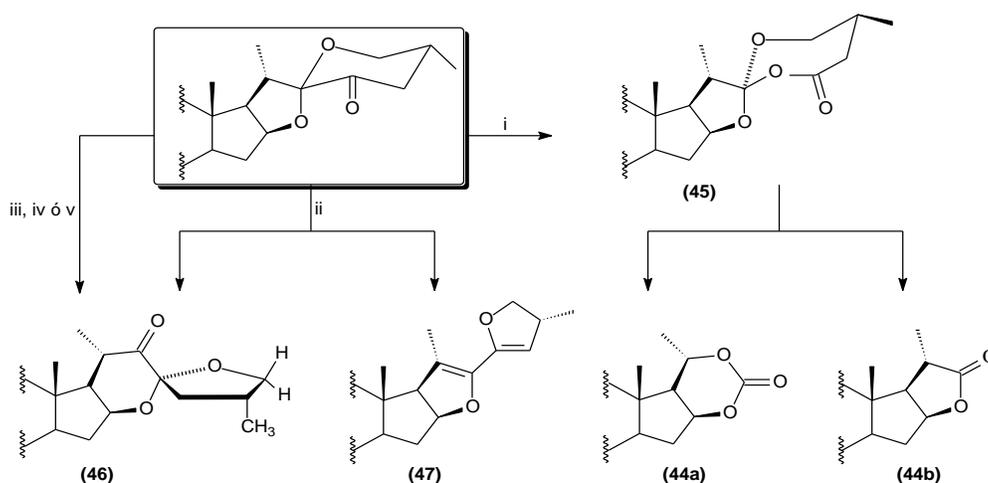
Figura 18. Reacciones típicas de sustitución en C₂₃.

4.2.6.2. Reacciones de reordenamiento en el anillo F de SE.

Durante la última década nuevas transformaciones de la fracción espirocetálica de las sapogeninas esteroidales han sido publicadas. Muchas de estas reacciones han surgido como consecuencia de la funcionalización de la posición C-23 (figura 19).^{35,42,44}

Una reacción que ha llamado la atención de diversos científicos en este campo, es la reacción de Baeyer-Villiger en 25*R* y 25*S*-23-oxosapogeninas, que al ser tratadas con ácido *m*-cloroperoxibenzoico (MCPBA) en diclorometano con calentamiento a reflujo (CH₂Cl₂) produce una mezcla del carbonato de pregnano-3,16,20-triol (**44a**), más la lactona 22→16 bisnorcolánica (**44b**) y con la formación probable del intermediario o-éster (**45**).^{34,35}

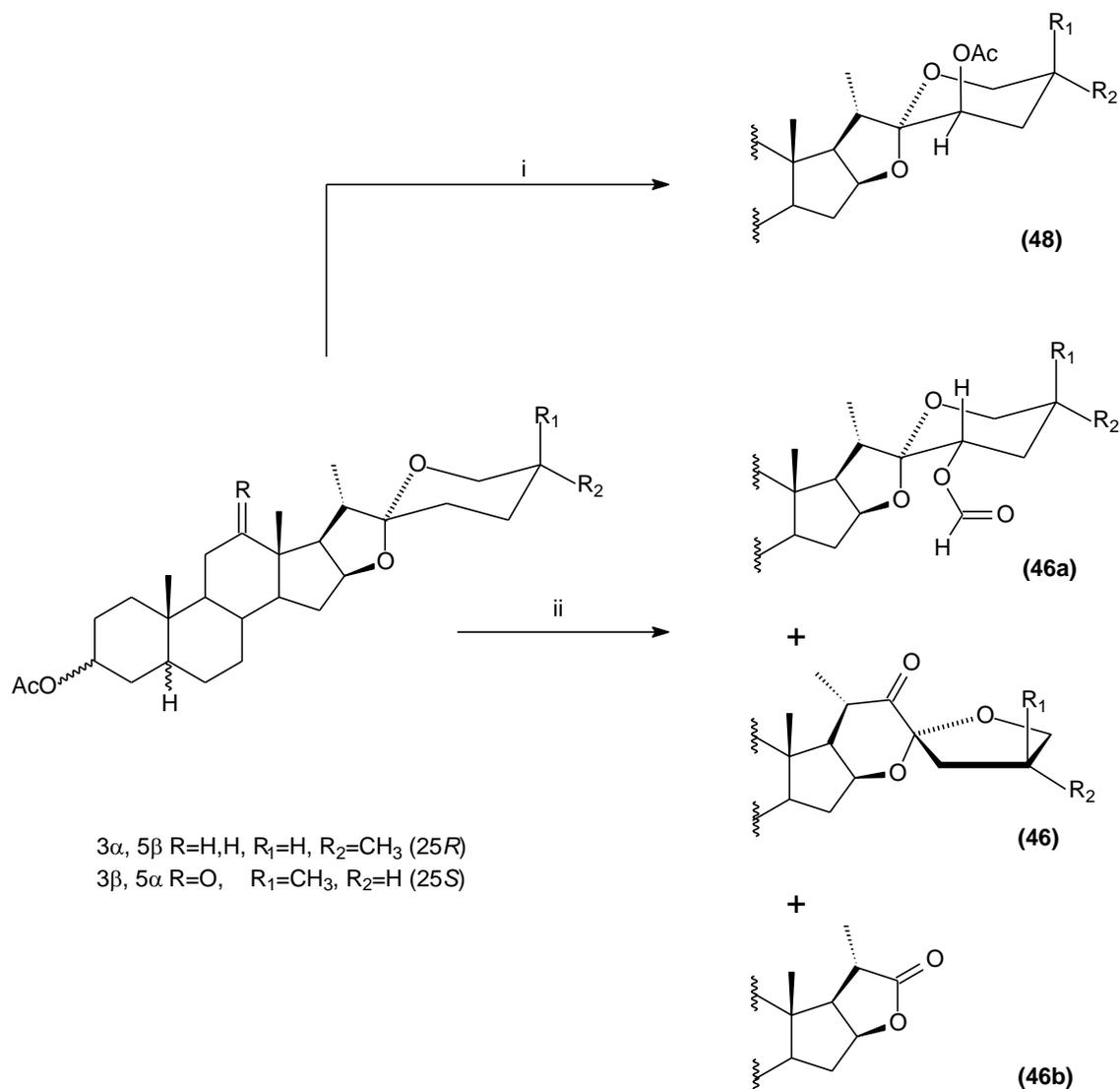
Se ha informado, además, que tanto las 25*R* como las 25*S*-23-oxosapogeninas producen el reordenamiento del anillo F a isómeros 22-oxo-23-espirocetales (**46**) cuando son tratadas con diferentes ácidos de Lewis como tetracloruro de titanio (TiCl₄) en CH₂Cl₂,^{45,46} BF₃·EtO en THF⁴⁷ o en ácido fórmico⁴⁶ y triflato de trimetilsililo (TMSOTf) en CH₂Cl₂ o benceno⁴⁴, con este último tratamiento se obtiene, además, el compuesto bisfurano (**47**).^{44,48}



i) MCPBA/CH₂Cl₂, reflujo;^{34,35} ii) TMSOTf, CH₂Cl₂ (o benceno);^{44,48} iii) TiCl₄/CH₂Cl₂;^{45,46} iv) BF₃·EtO/THF;⁴⁷ v) BF₃·EtO/HCOOH⁴⁶

Figura 19. Reordenamiento del anillo F de 23-oxoespirostanos.

Recientemente nuestro grupo describió la formación de la 16 β ,23:23,26-diepoxi-22-ona (**46**)⁴⁶ partiendo del acetato de sapogeninas esteroidales de la serie, 25*S* y 25*R* sin sustitución en el C₂₃, al tratarlas con diacetoxiidobenceno (DIB) y BF₃·EtO en ácido fórmico, dicha reacción produce mayoritariamente la 23-formiloxisapogenina (ecuatorial) (**46a**) y en menor cantidad, la lactona bisnorcolánica correspondiente (**46b**). Anterior a este trabajo fue descrito, también por nuestro grupo de trabajo, que el tratamiento similar (DIB/BF₃·EtO/ácido acético) de los acetatos de 3-epiesmilagenina y hecogenina produce las correspondientes 23*R*-acetoxysapogeninas (**48**) (figura 20).



i) DIB/BF₃·EtO/CH₃COOH/TA. 40' ³⁰ ii) DIB/BF₃·EtO/HCOOH/TA. 40' ⁴⁶

Figura 20. Reacciones de aciloxilación en posición C-23 de sapogeninas esteroidales.

En los últimos años, los compuestos de yodo hipervalente han recibido considerable atención por ser útiles herramientas sintéticas. Los derivados de yodo trivalente son poderosos y selectivos agentes oxidantes. El diacetoxiiodobenceno (DIB) (**49a**), uno de los primeros miembros de esta familia en ser descrito, es precursor sintético de un gran número de compuestos relacionados. El iodobenceno (IB) (**49b**) (generado *in situ* a partir de DIB), más tres equivalentes de base $^-$ (OH) en metanol, reacciona con varios tipos de cetonas, formando α -hidroxidimetil acetales en altos rendimientos (figura 21).⁴⁹

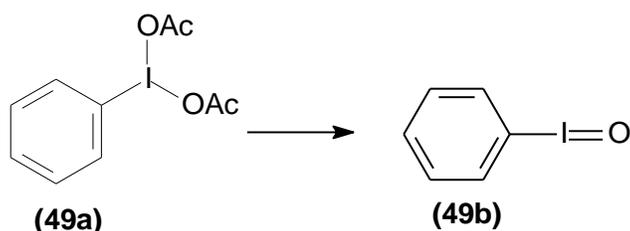


Figura 21. Iodobenceno (IB), generado *in situ* a partir de diacetoxiiodobenceno (DIB)

El reordenamiento de Favorskii, originalmente descrito en 1894, es una conocida reacción que tiene lugar en α -halo cetonas cuando son tratadas con una base nucleofílica tal como los iones hidróxido, alcóxido, aminas o amoniaco. Dicha reacción provee un método directo para la contracción de anillos en sistemas cíclicos mediante un mecanismo semibencílico o el de formación de la ciclopropanona (figura 21).⁵⁰

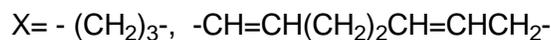
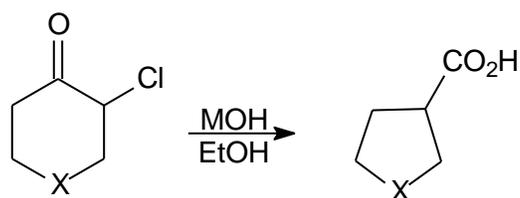


Figura 21. Reordenamiento de Favorskii en cetonas cíclicas.

Se ha informado que el tratamiento con DIB y KOH en MeOH, de cetonas cíclicas produce en algunos casos el reordenamiento de Favorskii, originando la contracción del

anillo.⁵⁰ En particular se ha informado que esta transformación puede conducir a 3-ceto esteroides^{49,51} y a 23-ceto sapogeninas (figura 22).⁴³

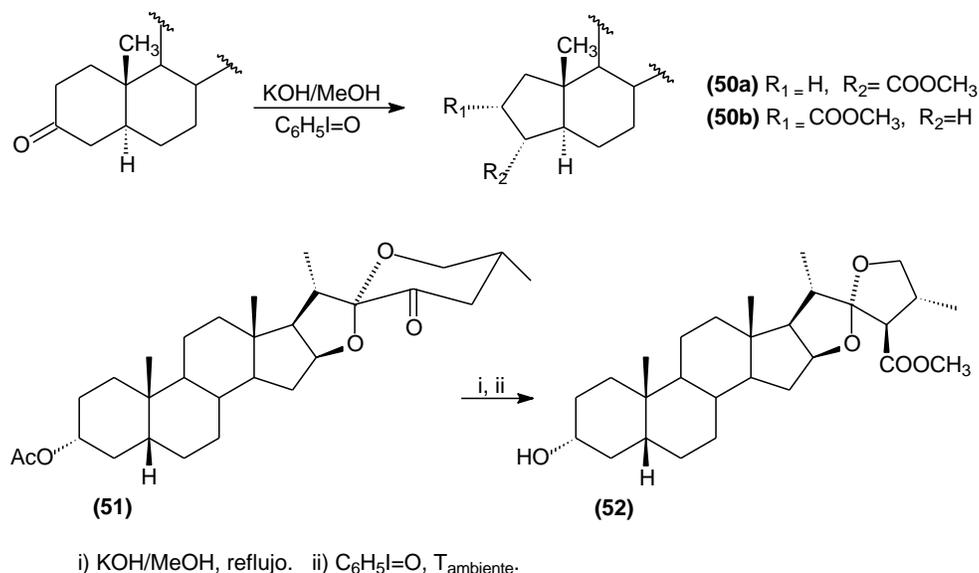


Figura 22. Reordenamientos de Favorskii en cetonas esteroidales.

4.2.7. Caracterización espectroscópica de las sapogeninas esteroidales.

Inicialmente la caracterización de esteroides se llevó a cabo mediante técnicas espectroscópicas que solo daban información limitada sobre su estructura general.

Las primeras técnicas empleadas para este fin fueron, la espectroscopía de absorción infrarroja (IR), con la que se obtiene información acerca de los grupos funcionales presentes en la estructura y el Ultravioleta (UV) que da información de los compuestos que poseen sistemas insaturados conjugados.⁶

Actualmente la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN), es por mucho, la técnica que proporciona la mayor información para la elucidación total de miles de estructuras, entre ellas los compuestos esteroidales, ya que mediante experimentos unidimensionales y bidimensionales de 1H y ^{13}C permite obtener información de los

átomos que los constituyen y al mismo tiempo revela la presencia y localización exacta de grupos funcionales existentes.

Diversas revisiones han informado la asignación total de los corrimientos químicos observados en espectros de ^1H y ^{13}C de un gran número de compuestos esteroidales, particularmente de sapogeninas esteroidales espirostánicas, serie 25*R* y 25*S*.^{24,27,43,52-55} Tales estudios han servido como punto de comparación para la elucidación estructural de nuevos derivados ya que estos, generalmente, poseen características estructurales similares.

Otra técnica de gran valor en la caracterización de sapogeninas esteroidales, es la espectrometría de masas (EM), que proporciona información sobre la masa relativa de una molécula, mediante la inducción de la fragmentación a sus partes ionizadas.

Varios trabajos han informado el estudio de las fragmentaciones inducidas por impacto electrónico en las sapogeninas esteroidales.⁵⁶

Las agrupaciones cetálicas de las sapogeninas esteroidales tienen gran capacidad de localización de carga, por lo que las fragmentaciones fundamentales que se producen están relacionadas directamente con estas, siendo de menor importancia las relacionadas con el núcleo esteroide. Son de particular interés los picos generados por las fragmentaciones en las que se encuentra involucrado el anillo E (m/z 328, 331, 341) y también las correspondientes puramente al anillo F (m/z 112, 126, 139 pico base). La sustitución o modificación en la cadena lateral, produce cambios notables en la fragmentación asociada a los anillos E y F, dando lugar a la desaparición del pico base en m/z 139, lo que permite conocer fácilmente si la sapogenina presenta o no sustitución en la fracción espirocetálica.⁴³

4.2.8. Actividad biológica de derivados esteroidales.

En particular se han descrito diferentes esteroides con interesante actividad biológica (figura 23).

Algunas importantes saponinas esteroidales como la diosgenina (**13**), la tigogenina (**21**), y la sarsasapogenina (**23**), poseen potente actividad antiarrítmica, antiisquémica, antitrombótica, antiinflamatoria, etc.⁵⁷

En años pasados, investigaciones preclínicas *in vitro* demostraron la potente actividad anticancerígena que posee la diosgenina (**13**), que al igual que la tigogenina (**21**) y la hecogenina (**22**) fueron probadas en la línea celular 1547 derivada de osteosarcoma humano, siendo la diosgenina la de mayor efecto antiproliferativo.^{58,59}

En otros estudios, la diosgenina (**13**) tuvo un similar e importante efecto antiproliferativo sobre diferentes tipos de líneas celulares derivadas de tumores cancerígenos, como la HT-29⁶⁰ y HCT-116⁶¹ del cáncer de colon, la línea HEp-2 y M4Beu de laringocarcinoma⁶² y melanoma humano,^{62,63} respectivamente. Además, la diosgenina (**13**), posee una fuerte actividad apoptótica en líneas celulares de sinoviocitos fibroblásticos derivados de artritis reumatoide humana.⁶⁴

Algunos estudios recientes indican que compuestos con cadenas laterales modificadas presentan, a menudo, buena actividad biológica. Tal es el caso de los análogos de brasinoesteroides (**53a**, **53b**, **54**) que son potentes estimuladores del crecimiento vegetal,^{36,65} así como de los hipurostanoles (**55**), (cuya cadena lateral deriva de la forma furoespirostánica, 1,6-dioxaspiro[4.4]nonano) que presentan potente actividad citotóxica y antitumoral.⁶⁶

Dentro de los compuestos esteroidales con importante actividad farmacológica, cabe mencionar a la saponina esteroideal OSW-1 (**56**), que es un agente extremadamente

tóxico en líneas celulares de tumores malignos derivados de Leucemia (HL-60), mastocarcinoma de ratón, adenocarcinoma pulmonario humano, entre otros.⁶⁷

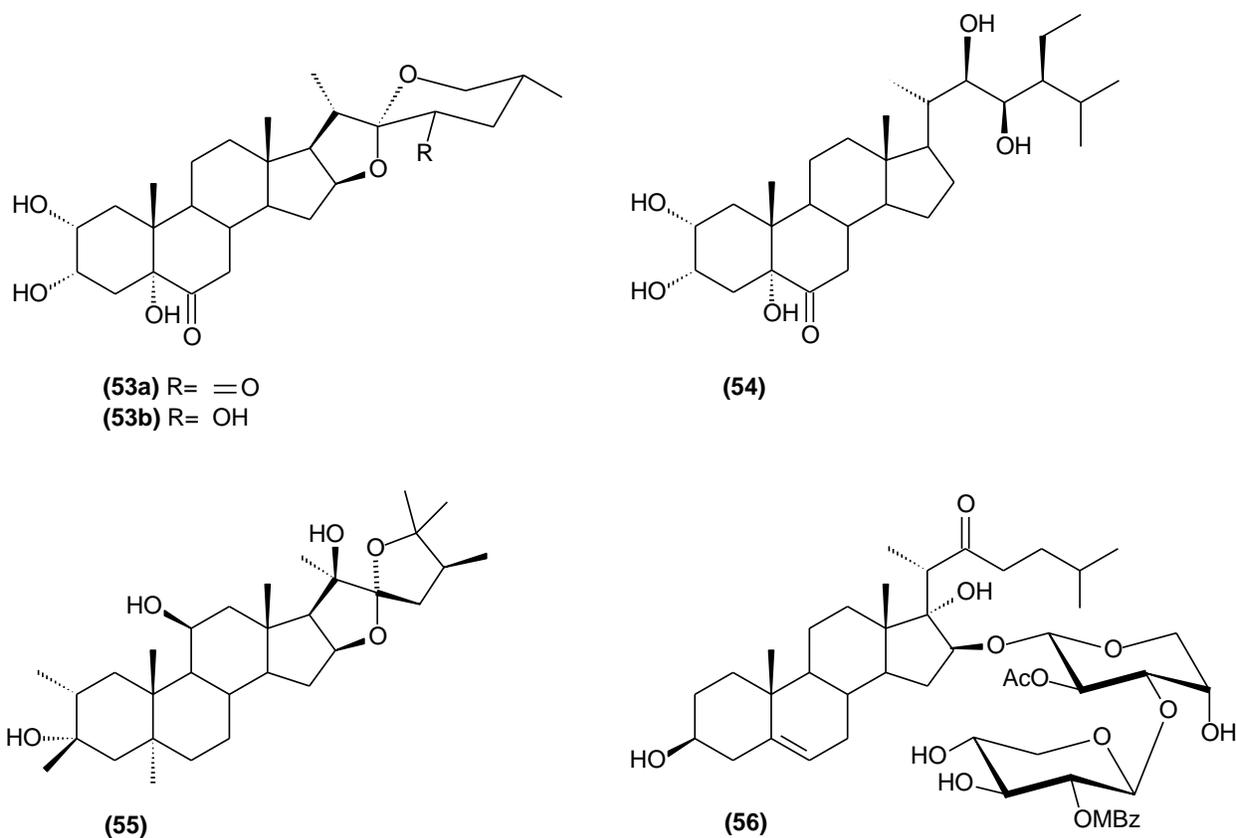


Figura 23. Algunos compuestos esteroidales con importante actividad biológica.

REACTIVOS

➤ **Reactivos**

1. Acetato de 23-ceto-diosgenina (25*R*)-3β-acetoxi-5-en-espirostan-23-ona (C₂₉H₄₂O₅).
2. Acetato de 23-ceto-tigogenina (25*R*)-3β-acetoxi-5α-espirostan-23-ona (C₂₉H₄₄O₅).
3. Hidróxido de potasio (KOH). Baker.
4. Diacetoxiyodobenceno (C₁₀H₁₁IO₄). Fluka.
5. Hidruro de litio y aluminio (LiAlH₄). ALDRICH.
6. Tetrahidrofurano (C₄H₈O). ALDRICH. Se seca de Na/benzofenona.
7. Carbonato de potasio (K₂CO₃). Baker.
8. Vainillina (C₈H₈O₃). JVC.
9. Sulfato de sodio anhidro. (Na₂SO₄). ALVI.
10. Cloruro de sodio (NaCl). Baker.
11. Metanol (CH₄O). Mallinckroch Chrom AR[®] HPLC.
12. Etanol (C₂H₆O). Reproquifin.
13. Hexano (C₆H₁₄). Reproquifin.
14. Acetato de etilo (C₄H₈O₂). Reproquifin.
15. Diclorometano (CH₂Cl₂). Reproquifin. Se seca de CaH.
16. Ácido perclórico (HClO₄). ALDRICH.
17. Sílica gel Kiesegel 60. Macherey-Nagel.
18. Cromatoplacas ALUGRAM[®] SIL G/UV₂₅₄ MACHEREY-NAGEL.
19. Agua
20. Hielo

DESARROLLO EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

6.1. General.

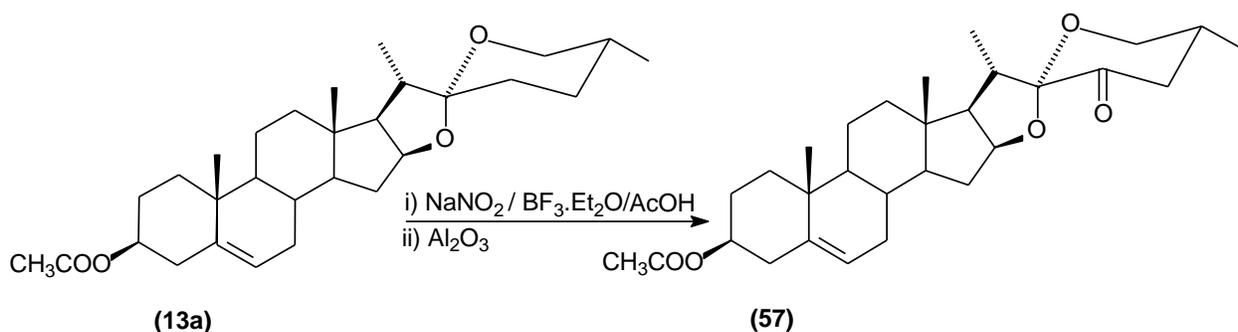
El curso de las reacciones fue seguido mediante cromatografía en capa delgada (CCD) empleando cromatoplasas ALUGRAM® SIL G/UV₂₅₄ de MACHEREY-NAGEL. Las cromatoplasas fueron sumergidas en una disolución de vainillina, (0.5 g vainillina, 30% de HClO₄, 70% EtOH) y calentadas hasta aparición de color.

Los productos fueron purificados mediante cromatografía en columna, empleando sílica gel de KIESELGEL 60 MACHEREY-NAGEL.

Los puntos de fusión de los productos puros fueron medidos en un equipo Electrothermal MEL-TEMP®.

Para la caracterización de los compuestos se realizaron experimentos de resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C, registrados en equipos Varian INOVA de 400 MHz y 300 MHz empleando CDCl₃ como disolvente, salvo en casos donde se indica una mezcla de disolventes. Se emplearon las señales del disolvente (¹H, 7.26 ppm y ¹³C, 77.00 ppm) como referencia. Los espectros de masas fueron registrados en un espectrómetro de alta resolución Thermo-Electron modelo DFS.

6.2. Síntesis de (25R)-3β-acetoxi-5-en-espirostan-23-ona (57).



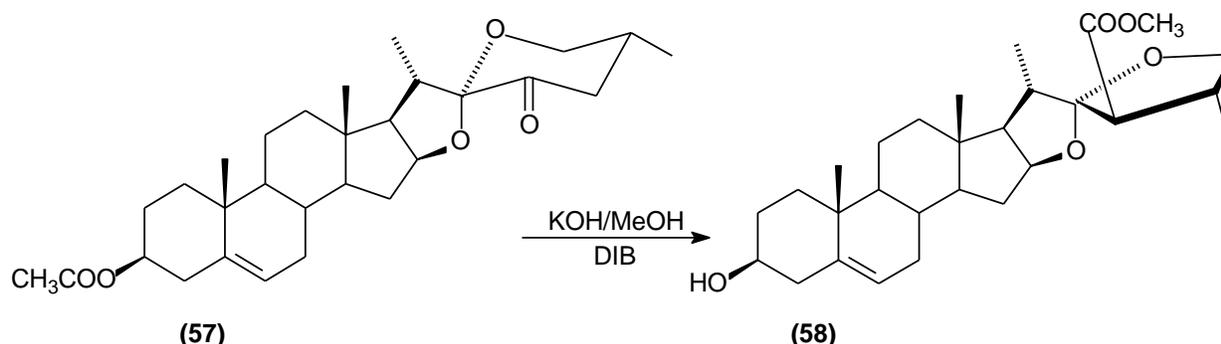
A una suspensión de acetato de diosgenina (3 g, 6.57 mmol) en ácido acético (75 mL), con agitación, se le adicionó BF₃.Et₂O (2.69 mL) y poco a poco, en un lapso de 45 min, se le agregó NaNO₂ (526 mg), se continuó con la agitación. A los 30 minutos se realizó una segunda adición de BF₃.Et₂O y NaNO₂ (75 mL y 526 mg respectivamente). El

tiempo de reacción fue de 90 min, posteriormente la mezcla de reacción se vertió sobre agua con hielo (~400 mL) y el precipitado formado se filtró al vacío y se lavó con abundante agua. El producto se redisolvió con 100 mL de acetato de etilo, se lavó con una disolución de Na₂CO₃ al 5% (2 x 50mL) y una disolución saturada de NaCl (1 x 50mL), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad, se obtuvo un sólido ligeramente amarillo.

Para realizar la hidrólisis correspondiente, el producto fue disuelto en una mínima cantidad de benceno (~5 mL) y se le adicionaron unas gotas de hexano. La disolución fue adicionada a una columna empaquetada con alúmina seca (Brockmann Actividad III) y se dejó en reposo durante un periodo de 15 h, cumplido este tiempo se eluyó con un sistema de disolventes hexano/acetato de etilo 10:1. Las fracciones obtenidas fueron evaporadas al vacío. Se obtuvo el producto como un sólido blanco con rendimiento de 35% (1,082 mg, 2.29 mmol) y p.f. 191-193 °C (recristalizado de acetato de etilo/hexano). ¹H RMN (300 MHz): 5.36 (m, 1H, H-6); 4.61 (m, 1H, H-3); 4.60 (m, 1H, H-16); 3.78 (dd, *J* = 11.0, 11.0 Hz, 1H, H-26 ax.); 3.59 (ddd, *J* = 11.0, 5.0, 1.8 Hz, 1H, H-26 eq.); 2.88 (m, 1H, H-20); 2.27 (m, 1H, H-25); 2.03 (s, 3H, OCH₃); 1.03 (s, 3H, H-19); 0.94 (d, *J* = 7.03 Hz, H-21); 0.94 (d, *J* = 7.01 Hz, 3H, H-27); 0.79 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (75 MHz): 37.0 C-1; 27.8 C-2; 73.8 C-3; 38.1 C-4; 139.5 C-5; 122.0 C-6; 32.0 C-7; 31.4 C-8; 50.0 C-9; 36.7 C-10; 20.8 C-11; 39.5 C-12; 40.8 C-13; 56.5 C-14; 31.8 C-15; 83.2 C-16; 61.6 C-17; 16.1 C-18; 19.4 C-19; 34.8 C-20; 14.5 C-21; 109.7 C-22; 201.5 C-23; 45.3 C-24; C-25; 65.6 C-26; 17.2 C-27; 21.5 CH₃ acetato; 170.3 C=O acetato.

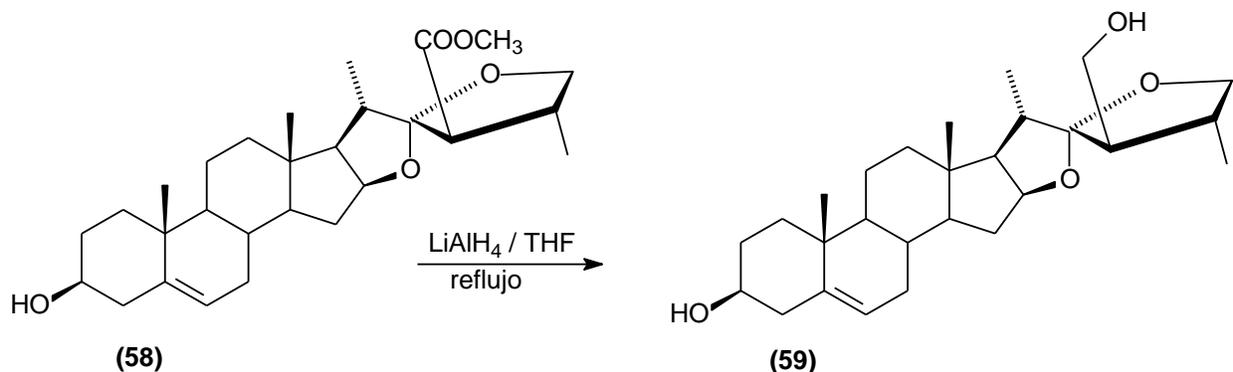
La caracterización espectroscópica fue comparada con la reportada en trabajos previos.^{72,73}

6.3. Síntesis de (22*S*,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en- 3β ol (58).



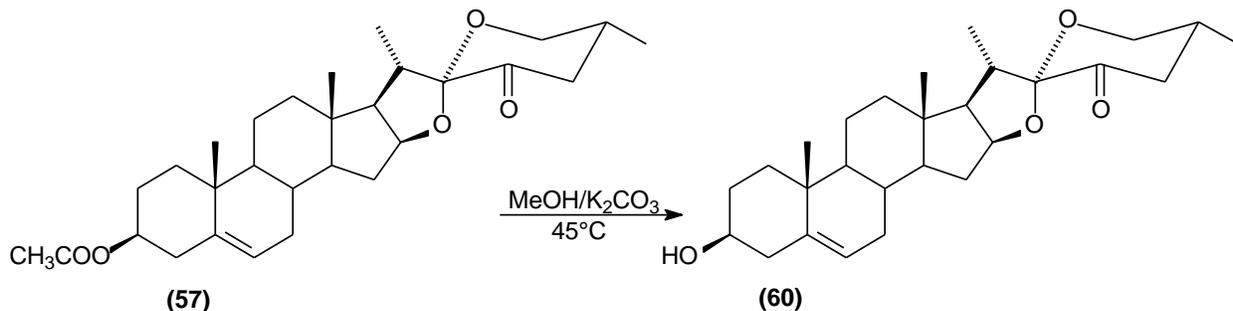
A una disolución de acetato de 23-oxo-diosgenina (**57**) en MeOH (48 mL), en agitación, se le adicionó KOH (750 mg). La mezcla de reacción se calentó en un baño de agua a 60 °C con agitación manual lenta hasta disolución total y se dejó enfriar a temperatura ambiente manteniendo la agitación. Enseguida se le adicionó, lentamente, DIB (483.3 mg, 1.5 mmol), el tiempo de reacción fue de 15 minutos, luego de los cuales fue adicionada sobre agua con hielo (~400 mL), el precipitado formado se filtró, se lavó con abundante agua y se secó al vacío, posteriormente se purificó mediante cromatografía en columna, utilizando un sistema de elución a gradiente (hexano/acetato de etilo desde 9:1 hasta 8:2), para obtener el derivado reordenado como un sólido blanco con rendimiento de 63% (1,290 mg, 2.81 mmol) y p.f. 118-120 °C (recristalizado de acetato de etilo/hexano). $^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm 5.32 (m, $J = 5.08$ Hz, 1H, H-6), 4.41 (ddd, $J = 7.66, 7.60, 6.09$ Hz, 1H, H-16), 4.01 (dd, $J = 7.68, 7.68$ Hz, 1H, H-25 *pro-S*), 3.71 (s, 3H OCH_3), 3.48 (m, 2H, H-3 y H-25 *pro-R*), 2.83 (d, $J = 9.42$ Hz, 1H, H-23), 2.63 (m, 1H, H-24), 1.02 (s, 3H, H-19), 1.00 (d, $J = 7.63$ Hz 3H, H-24'), 0.93 (d, $J = 6.93$ Hz, 3H, H-21), 0.77 (s, 3H, H-18). $^{13}\text{C RMN}$ (75.5 MHz, CDCl_3): 37.16 C-1; 31.49 C-2; 71.59 C-3; 42.15 C-4; 140.74 C-5; 121.27 C-6; 31.95 C-7; 31.45 C-8; 54.31 C-9; 36.56 C-10; 20.71 C-11; 39.49 C-12; 40.7 C-13; 56.36 C-14; 31.82 C-15; 81.33 C-16; 62.53 C-17; 15.83 C-18; 19.33 C-19; 37.48 C-20; 15.48 C-21; 119.31 C-22; 59.65 C-23; 172.47 C-23'; 37.37 C-24; 15.34 C-24'; 72.44 C-25; 51.77 OCH_3 . **EM (FAB):** 459 MH^+ .

6.4. Síntesis de (22*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3β-ol (59).



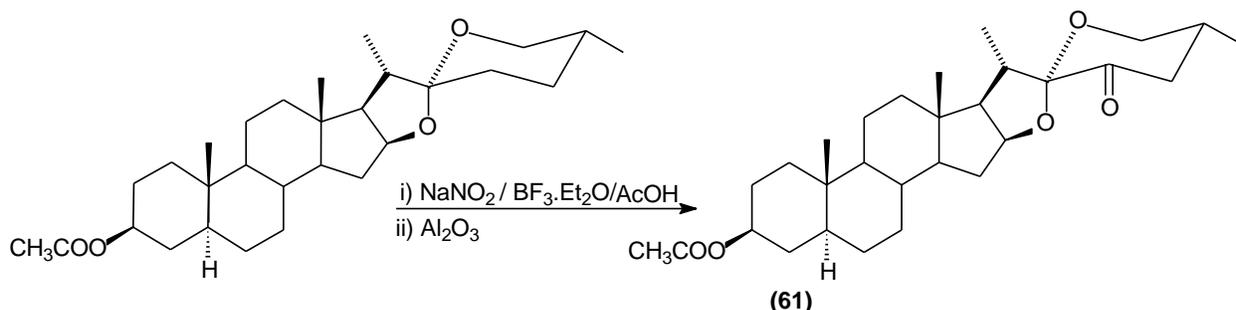
A una suspensión de LiAlH₄ (754.5 mg, 19.88 mmol) en THF (42 mL), bajo condiciones anhidras, en agitación y calentamiento a reflujo, le fue adicionada gota a gota una disolución de (58) (1 g, 2.18 mmol) en THF (35 mL), además, se empleó THF (15 mL) para arrastrar completamente la disolución. El curso de la reacción se siguió mediante CCD. El tiempo de reacción fue de 90 min, posteriormente se enfrió sobre un baño de hielo, se le adicionó lentamente acetato de etilo frío (50 mL) seguido por agua c/hielo (35 mL). La fase orgánica se lavó con agua (5 x 20 mL), se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. El producto se purificó empleando cromatografía en columna, utilizando un sistema de elución a gradiente (hexano/acetato de etilo desde 9:1 hasta 6:4), y se obtuvo un sólido blanco, con rendimiento de 63% (592 mg, 1.375 mmol), y con p.f. 202-204 °C (recristalizado de hexano/acetato de etilo). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 5.34 (m, *J* = 5.08 Hz, 1H, H-6), 4.44 (ddd, *J* = 7.61, 7.57, 6.39 Hz, 1H, H-16), 3.96 (dd, 1H, H-25 *pro-S*), 3.74 (m, 2H, H-23'a y H-23'b), 3.52 (m, 1H, H-3), 3.43 (dd, *J* = 9.31, 8.28 Hz, 1H, H-25 *pro-R*) 2.43 (p, *J* = 6.77, 6.77, 6.74, 6.74 Hz, 1H, H-20), 1.07 (d, *J* = 6.32 Hz, 3H, H-24'), 1.02 (s, 3H, H-19), 1.01 (d, *J* = 8.23 Hz, 3H, H-21), 0.83 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) 37.16 C-1; 31.39 C-2; 71.68 C-3; 42.2 C-4; 140.7 C-5; 121.39 C-6; 31.98 C-7; 31.55 C-8; 49.95 C-9; 36.83 C-10; 20.78 C-11; 39.65 C-12; 40.77 C-13; 56.29 C-14; 31.88 C-15; 80.89 C-16; 62.61 C-17; 16.31 C-18; 19.41 C-19; 35.74 C-20; 16.27 C-21; 120.22 C-22; 55.63 C-23; 62.42 C-23'; 36.58 C-24; 16.2 C-24' 72.18 C-25; **EM (FAB):** 431 MH⁺.

6.5. Síntesis de (25*R*)-3β-ol-5-en-espirostan-23-ona (60).



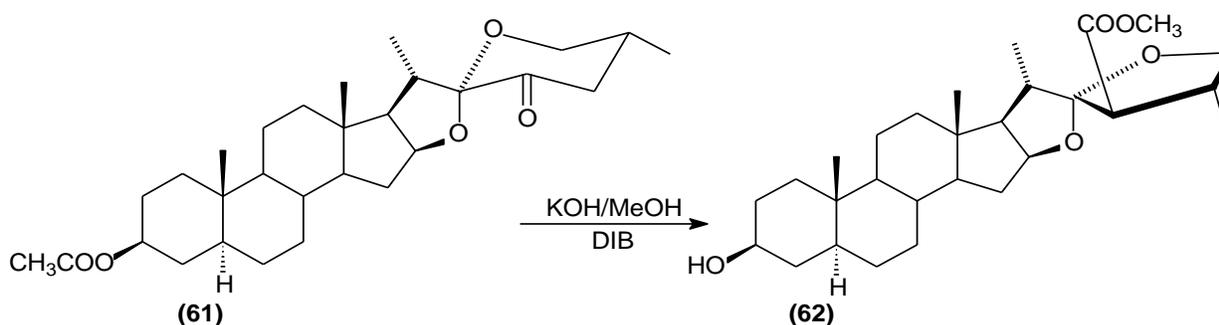
A una disolución de **(57)** (150 mg, 0.32 mmol) se le adicionó una disolución saturada de MeOH/K₂CO₃ (150 mL/1 g) (25 mL) y se dejó en agitación en un baño de arena, con temperatura constante de 45 °C. El curso de la reacción fue seguido mediante CCD. El tiempo de reacción fue de 1 h. Posteriormente se evaporó la mayor parte del MeOH de la mezcla de reacción, el semisólido resultante se disolvió en 30 mL de acetato de etilo y se lavó con una disolución saturada NaCl (3x30 mL) y con agua (2 x 25 mL), la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Se obtuvo un sólido blanco, con rendimiento de 91% (124 mg, 0.29 mmol) y con p.f. 198-200 °C (recristalizado de acetato de etilo/hexano). **¹H RMN** (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 5.32 (d, *J* = 5.23 Hz, 1H, H-6), 4.60 (ddd, *J* = 7.62, 7.62, 6.32 Hz, 1H, H-16), 3.77 (dd, *J* = 11.26, 11.26 Hz, 1H, H-26 *pro-S*), 3.56 (ddd, *J* = 11.15, 4.59, 1.40 Hz, 1H, H-26 *pro-R*), 3.49 (m, 1H, H-3), 2.86 (p, *J* = 6.93, 6.93, 6.91, 6.91 Hz, 1H, H-20), 2.26 (m, 1H, H-25), 1.00 (s, 3H, H-27), 0.92 (d, *J* = 7.52 Hz, 3H, H-21), 0.90 (d, *J* = 6.43 Hz, 3H, H-19), 0.77 (s, 3H, H-18). **¹³C RMN** (100MHz, CDCl₃): 37.18 C-1; 31.55 C-2; 71.62 C-3; 42.2 C-4; 140.88 C-5; 121.14 C-6; 31.96 C-7; 31.36 C-8; 44.99 C-9; 36.59 C-10; 20.74 C-11; 39.53 C-12; 40.71 C-13; 56.61 C-14; 31.75 C-15; 83.26 C-16; 61.62 C-17; 15.97 C-18; 19.37 C-19; 34.72 C-20; 14.34 C-21; 109.8 C-22; 201.8 C-23; 45.22 C-24; 35.79 C-25; 65.57 C-26; 17.03 C-27. **EM (FAB)**: 429 MH⁺.

6.6. Síntesis de (25R)-3β-acetoxi-5α-espirostan-23-ona (61).



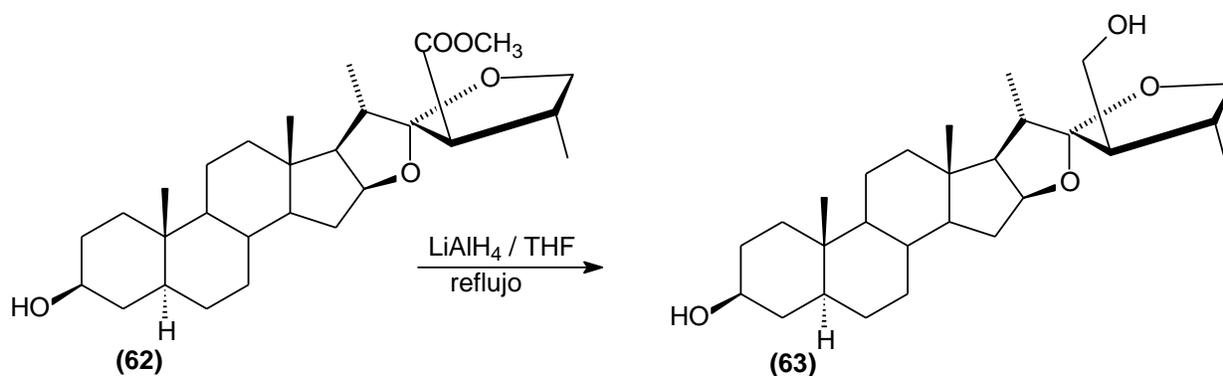
Se siguió la técnica arriba descrita para la obtención de la (25R)-3β-acetoxi-5-enspirostan-23-ona (57), empleando las siguientes cantidades: acetato de tigogenina (21a) (2g, 4.36 mmol); ácido acético (50 mL); BF₃·Et₂O (1.8 mL); NaNO₂ (352 mg); tiempo de reacción 90 min. Rendimiento 29% (609 mg, 1.28 mmol), p.f. 155- 157 °C (recristalizado de acetato de etilo). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): 4.70 (tt J 4.7Hz, J 11.3Hz, 1H, H-3); 4.59 (m, 1H, H-16); 3.77 (dd, J 11.2 Hz, 11.2 Hz, 1H, H-26 ax.); 3.57 (dd, J 4.2 Hz J 11.2 Hz, 1H, H-26 eq.); 2.86 (q J 7.0Hz, 1H, H-20); 2.27 (m, 1H, H-25); 2.01 (s, 3H, OCH₃); 0.93 (s, 3H, H-19); 0.92 (d J 6.4 Hz, 3H, H-27); 0.93 (d J 6.6 Hz, 3H, H-21); 0.74 (s, 3H, H-18). ¹³C NMR (75.5 MHz, CDCl₃): C-1 35.0; C-2 26.5; C-3 74.2; C-4 32.2; C-5 41.6; C-6 26.9; C-7 26.6; C-8 35.4; C-9 40.5; C-10 34.7; C-11 20.5; C-12 39.9; C-13 41.1; C-14 56.4; C-15 31.7; C-16 83.4; C-17 61.8; C-18 16.1; C-19 23.3; C-20 34.7; C-21 14.3; C-22 109.8; C-23 201.8; C-24 45.2; C-25 35.8; C-26 65.6; C-27 17.0; CH₃ acetato 21.4, C=O acetato 170.5.³⁵

6.7. Síntesis de (22S,23R,25R)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5α-furostan-3β-ol (62).



Se siguió la técnica arriba descrita para la obtención de la (22*S*,23*R*,25*R*)-23-metoxycarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3β ol (**58**), empleando las siguientes cantidades: (25*R*)-3β-acetoxi-5α-espirostan-23-ona (**61**) (1g, 2.32 mmol); MeOH (75 mL) KOH (1.16 g); DIB (747 mg, 2.32 mmol); tiempo de reacción 30 min. Rendimiento 97% (445 mg, 0.97 mmol), p.f. 192-194 °C (recristalizado de hexano/acetato de etilo). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm 4.40 (ddd, *J* = 7.70, 6.14, 6.14 Hz, 1H, H-16), 4.02 (dd, *J* = 7.67, 7.67 Hz, 1H, H-25 *pro-S*), 3.72 (s, 3H OCH₃), 3.46 (m, 2H, H-3 y H-25 *pro-R*), 2.84 (d, *J* = 9.41 Hz, 1H, H-23), 2.10 (m, 1-H, H-20), 2.64 (m, 1H, H-24), 1.01 (d, *J* = 6.58 Hz, 3H, H-24'), 0.92 (d, *J* = 6.95 Hz, 3H, H-21), 0.80 (s, 3H, H-19), 0.75 (s, 3H, H-18). ¹³C RMN (75.5 MHz, CDCl₃): 35.17 C-1; 31.45 C-2; 71.21 C-3; 36.94 C-4; 44.81 C-5; 28.56 C-6; 32.18 C-7; 35.55 C-8; 54.27 C-9; 38.14 C-10; 20.94 C-11; 39.80 C-12; 40.04 C-13; 56.19 C-14; 31.77 C-15; 81.38 C-16; 62.7 C-17; 16.06 C-18; 12.30 C-19; 37.40 C-20; 15.49 C-21; 119.30 C-22; 59.69 C-23; 172.5 C-23'; 37.50 C-24; 15.38 C-24'; 72.47 C-25; 51.77 CH₃O-23'. EM (FAB): 461 MH⁺.

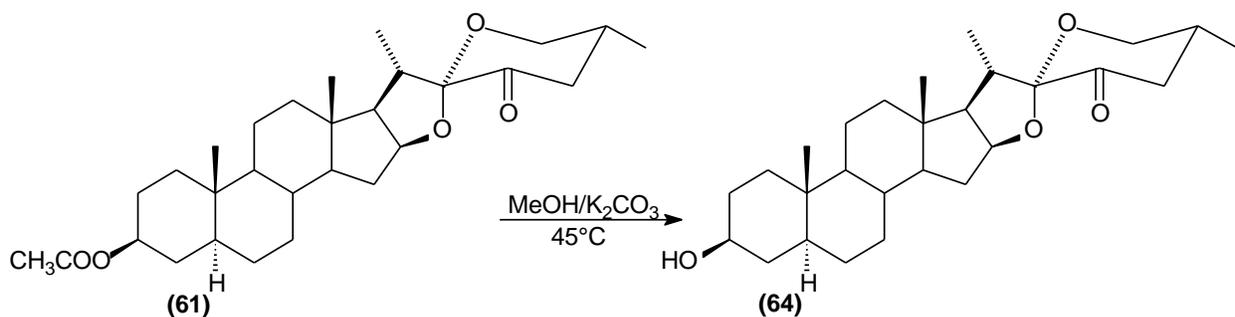
6.8. Síntesis de (22*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5-α-furostan-3β-ol (**63**).



Se siguió la técnica arriba descrita para la obtención de la (22*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5-en-furostan-3β-ol (**59**), empleando las siguientes cantidades: LiAlH₄ (173 mg, 4.56 mmol); THF (10 mL); disolución de (22*S*,23*R*,25*R*)-23-

metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5 α -furostan-3 β -ol (**62**) (230.31 mg, 0.5 mmol) en THF (7 mL); THF adicional (10 mL); tiempo de reacción 30 min.; acetato de etilo frío (15 mL) más agua/hielo (10 mL). Purificación del producto, sistema de elución a gradientes (hexano/acetato de etilo desde 95:5 hasta 8:2). Se obtuvo un sólido blanco, con rendimiento de 46% (100 mg, 0.23 mmol), p.f. 252-254 °C, (recristalizado de acetato de etilo/metanol). $^1\text{H RMN}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) δ ppm, 4.42 (ddd, 1H, H-16), 3.95 (dd, 1H, H-25 *pro-S*), 3.75 (ddd, $J = 16.36, 10.88, 6.29$ Hz, 1H, H-23'a y H-23'b), 3.58 (ddd, $J = 15.76, 10.91, 4.74$ Hz, 1H, H-3), 3.43 (dd, $J = 9.31, 8.26$ Hz, 1H, H-25 *pro-R*), 2.41 (m, 1H, H-20), 1.00 (d, $J = 6.89$ Hz, 3H, H-24'), 0.96 (d, $J = 6.66$ Hz, 3H, H-21), 0.82(s, 3H, H-19), 0.80(s, 3H, H-18). $^{13}\text{C RMN}$ (100 MHz, CDCl_3): 35.14 C-1; 31.5 C-2; 71.29 C-3; 36.97 C-4; 44.84 C-5; 25.59 C-6; 32.22 C-7; 35.58 C-8; 54.33 C-9; 38.19 C-10; 21.02 C-11; 39.97 C-12; 41.12 C-13; 56.15 C-14; 31.84 C-15; 80.92 C-16; 62.84 C-17; 16.47 C-18; 12.36 C-19; 35.82 C-20; 16.16 C-21; 120.16 C-22; 55.71 C-23; 62.51 C-23'; 36.84 C-24; 16.34 C-24'; 72.2 C-25. **EM (FAB)**: 433 MH^+ .

6.9. Síntesis de (25*R*)-3 β -ol-5 α -espirostan-23-ona (**64**).



Se siguió la técnica arriba descrita para la obtención de la (25*R*)-3 β -ol-5 α -espirostan-23-ona (**60**), empleando las siguientes cantidades: disolución saturada de MeOH/K₂CO₃ (30 mL); acetato de 23-oxotigogenina (150 mg, 0.32 mmol); tiempo de reacción 4 h. Acetato de etilo (30 mL) para redissolver. Se obtuvo un sólido blanco con rendimiento de 94% (130 mg, 0.3 mmol) y p.f. 204-206 °C (recristalizado de acetato de etilo/hexano).

¹H RMN (400 MHz, *CDCl*₃) δ ppm 4.59 (ddd, 1H, H-16), 3.73 (dd, *J* = 11.3, 6.7, 2.1 Hz, 1H, H-26 *pro-S*), 3.57 (m, 1H, H-3 y H-26 *pro-R*), 2.85 (m, 1H, H-20), 2.24 (m, 1H, H-25), 0.89 (d, *J* = 7.1, 4.3, 2.1 Hz, 3H, H-21 y H-27), 0.76 (s, *J* = 2.0 Hz, 3H, H-19), 0.72 (s, 3H, H-18). **¹³C RMN** (100MHz, *CDCl*₃): 36.85 C-1; 31.11 C-2; 70.92 C-3; 37.79 C-4; 44.74 C-5; 28.47 C-6; 32.12 C-7; 34.98 C-8; 54.24 C-9; 35.48 C-10; 20.87 C-11; 39.72 C-12; 40.96 C-13; 56.33 C-14; 31.58 C-15; 83.31 C-16; 61.65 C-17; 16.09 C-18; 12.21 C-19; 34.69 C-20; 14.21 C-21; 109.72 C-22; 202.13 C-23; 45.16 C-24; 35.74 C-25; 65.52 C-26; 16.93 C-27. **EM (FAB):** 430 MH⁺.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

7.1. Metodología general para la transformación de la cadena lateral de los acetatos de diosgenina (13a) y tigogenina (21a).

Para la transformación de la cadena lateral del acetato de diosgenina (**13a**) se siguió un esquema que consiste en la introducción de un grupo carbonilo en la posición C-23, seguida de la trasposición de Favorskii para dar lugar al derivado portador de la nueva cadena furoespiroestánica (**58**), que fue reducido para obtener el producto final (**59**). Adicionalmente para ampliar la gama de productos, se llevó a cabo la hidrólisis del acetato de 23-cetodiosgenina (**57**) para producir la 23-cetodiosgenina (**60**) (figura 24, secuencia A). Para la transformación del acetato de tigogenina (**21a**) se siguió una metodología semejante (figura 24, secuencia B)

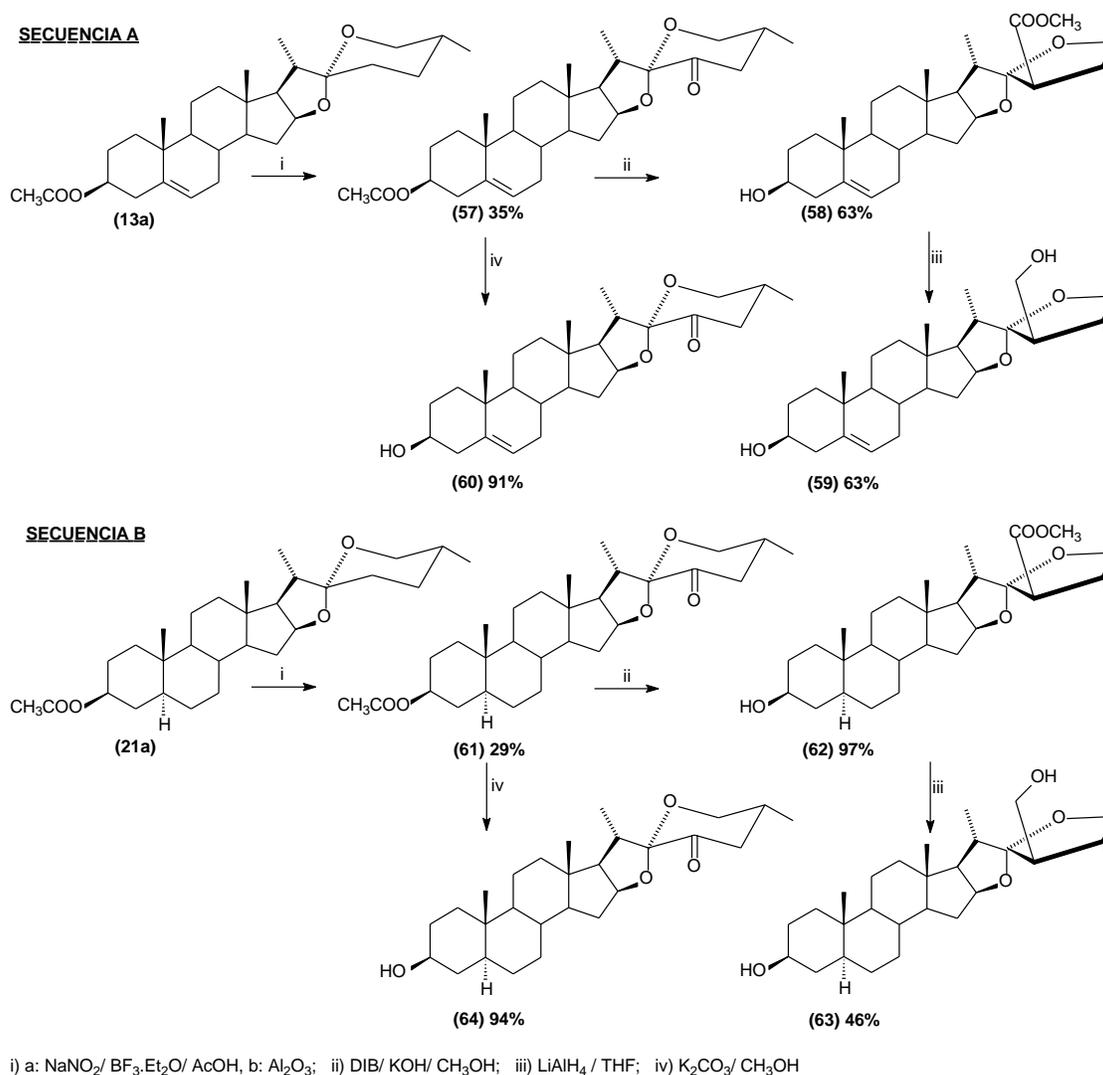


Figura 24. Esquemas generales de síntesis.

El tratamiento de los acetatos de 23-oxodiosgenina y 23-oxotigogenina, con DIB y KOH en MeOH produjo los derivados furoespirostánicos (**58**) y (**62**), mediante una trasposición de Favorskii (Figura 25) con rendimientos de moderados a buenos 62.5% y 97% respectivamente. Derivados que, al ser tratados con LiAlH_4 en de THF y con calentamiento a reflujo produjeron los compuestos reducidos (**59**) y (**63**) con rendimientos moderados 63% y 46%, respectivamente.

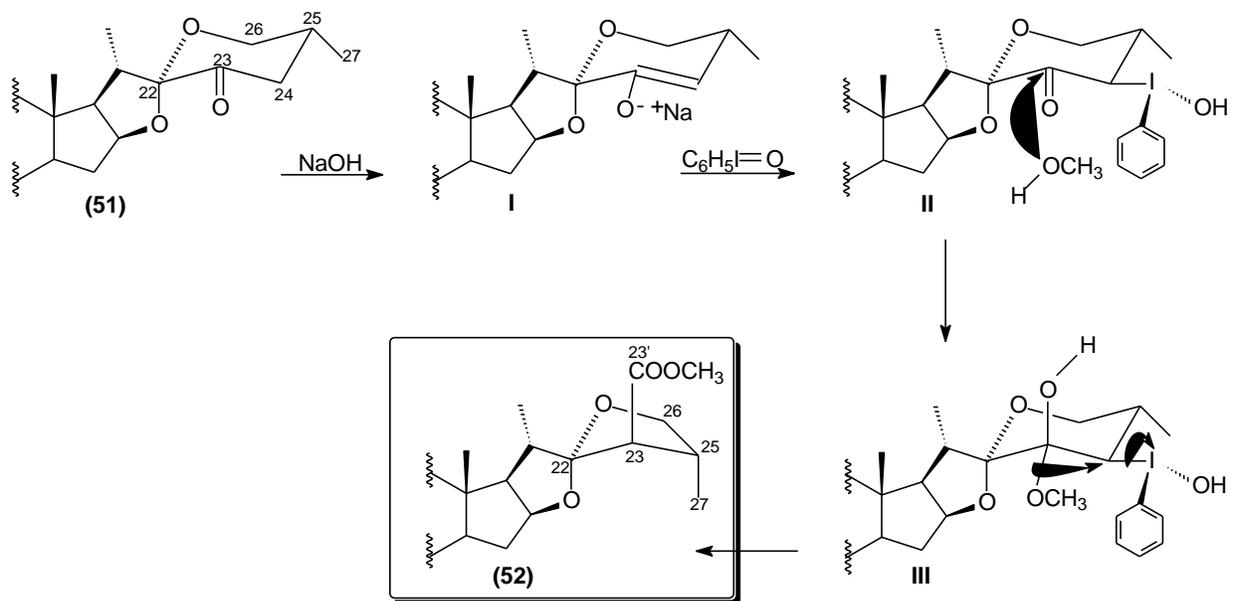


Figura 25. Mecanismo de Reacción propuesto por nuestro grupo de trabajo.

Para los productos del reordenamiento de Favorskii (**58**) y (**62**) el rendimiento más bajo se debe a que durante el transcurso de la reacción y en la purificación mediante cromatografía en columna con sílice se obtuvieron, además del producto de interés, mezclas de compuestos minoritarios que no fueron caracterizados para el presente estudio. En el caso del compuesto (**62**), no se observaron subproductos.

En la obtención de los dioles (**59**) y (**63**) el rendimiento fue moderado, en ambos casos, siendo menor el del derivado de tigogenina (**63**), ya que durante la purificación en columna cromatográfica el compuesto se quedó retenido, pues resultó poco soluble en el sistema de disolventes que se utilizó (hexano/acetato de etilo 8:2), lo que provocó pérdida del producto.

La interpretación de las señales observadas en los espectros tanto de ^1H como de ^{13}C para cada compuesto obtenido fue basada en diversos trabajos que, hasta la fecha, han reportado las características de RMN de sapogeninas esteroideas naturales y sintéticas.^{27, 43, 68, 69}

Las modificaciones estructurales de los compuestos se realizaron solo en la cadena lateral, por lo que se hará énfasis en las señales que se ven afectadas por tales cambios (anillos E y F), además de algunas otras que son características del núcleo esteroideal, como los singuletes de los grupos metilos correspondientes a las posiciones 18, 19 y las señales dobles de los metilos H-21 y H-27 (H-24' para los derivados furoespiroestánicos) que aparecen a campo alto alrededor de 0.8 ppm, 0.93 ppm, 1.00 ppm y 1.03 ppm respectivamente.

Para los derivados de la diosgenina, la señal que corresponde al protón olefínico H-6, se observa típicamente como una señal doble con desplazamiento alrededor de 5.3 ppm según se ha reportado con anterioridad.⁷⁰ Entre las características derivadas de la cadena lateral espirocetálica se destaca también la señal correspondiente a H-16 que aparece entre 4.20 y 4.60 ppm en forma de señal múltiple como resultado de los acoplamientos con los protones vecinos 15α , 15β y 17α .⁷ Se observa, además, que la señal de H-26 en las 23-oxosapogeninas, (H-25 para los derivados reordenados y los dioles) se desplaza ligeramente a un campo más bajo alrededor de 3.4 y 4.0 ppm.

Tabla 2. ¹H- RMN Corrimientos químicos (ppm) de interés, para los derivados esteroidales obtenidos.

Protón	58	59	60	62	63	64
H-3	3.48	3.52	3.49	3.46	3.58	3.57
H-6	5.32	5.34	5.32	----	----	----
H-16	4.41	4.44	4.60	4.40	4.42	4.59
CH ₃ -18	0.77	0.83	0.77	0.75	0.80	0.72
CH ₃ -19	1.02	1.02	0.90	0.80	0.82	0.76
H-20	----	2.43	2.86	2.10	2.41	2.85
CH ₃ -21	0.93	1.01	0.92	0.92	0.96	0.89
H-23	2.83	----	----	2.84	----	----
(α y β)	----	3.74	----	----	3.75	----
H-24	2.63	----	2.26*	2.64	----	2.26*
H-24'	1.00	1.07	----	1.01	1.00	----
H-25 <i>pro-S</i>	4.01	3.96	3.77**	4.02	3.95	3.77**
H-25 <i>pro-R</i>	3.48	3.43	3.56***	3.46	3.43	3.56***
H-27	----	----	1.00	----	----	1.00
OCH ₃	3.71	----	----	3.72	----	----

* Señal correspondiente a H-25.

*** Señal correspondiente a H-26 *pro-R*.

** Señal correspondiente a H-26 *pro-S*.

Las señales características mostradas por las sapogeninas esteroidales en RMN de ¹³C en trabajos ya reportados, se pudieron emplear también para la asignación general del núcleo estirostánico base, en cada uno de los derivados obtenidos (Compuestos **58**, **62**, **59** y **63**).^{27,69}

En la asignación de las señales de ¹³C se observan diferencias significativas en los carbonos 5 y 6 para el caso de los derivados (**58**) y (**59**) (derivados de diosgenina), debido al doble enlace presente en dicha posición, lo que tiene como consecuencia un desplazamiento de dichas señales alrededor de 141 ppm y 121 ppm respectivamente, en comparación con otras sapogeninas con esta posición saturada, en las que los

corrimientos para tales carbonos se observan a un campo mucho más alto, 44.8 y 28.5 ppm respectivamente.

También se observa una diferencia en los desplazamientos de la señal correspondiente al C-23' que para los compuestos reordenados (**58**) y (**62**) aparece a campo bajo, cercano a 172 ppm debido al grupo ácido que tales estructuras poseen en esa posición, mientras que para los derivados reducidos (**59**) y (**63**), las señales de C-23' están próximas a 62.5 ppm, tal corrimiento es ocasionado por la reducción del ácido carboxílico a alcohol primario.

Tabla 3. ^{13}C -RMN. Corrimientos químicos (ppm).

C#	58	59	60	62	63	64
1	37.16	37.16	37.18	37.4	36.97	36.85
2	31.49	31.39	31.55	34.49	31.5	31.11
3	71.59	71.68	71.62	71.2	71.29	70.92
4	42.15	42.2	42.2	38.15	38.19	37.79
5	140.74	140.69	140.88	44.84	44.84	44.74
6	121.27	121.39	121.14	28.58	28.59	28.47
7	31.95	31.8	31.96	32.19	32.23	32.12
8	31.45	31.55	31.36	35.19	35.14	34.98
9	49.94	49.95	49.99	54.31	54.33	54.24
10	36.56	36.83	36.59	35.55	35.58	35.48
11	20.71	20.78	20.74	20.95	21.02	20.87
12	39.49	39.65	39.53	39.82	39.97	39.72
13	40.7	40.77	40.71	41.05	41.12	40.96
14	56.36	56.29	56.61	56.21	56.16	56.33
15	31.82	31.88	31.75	31.78	31.84	31.58
16	81.33	80.89	83.26	81.36	80.93	83.31
17	62.53	62.61	61.62	62.74	62.84	61.65
18	15.83	16.31	15.97	16.05	16.47	16.09
19	19.33	19.41	19.37	12.3	12.36	12.21
20	37.48	35.74	34.72	37.5	35.82	34.69
21	15.48	16.27	14.34	15.47	16.34	14.21

22	119.31	120.22	109.8	119.3	120.19	109.72
23	59.65	55.63	201.8	59.71	55.71	202.13
23'	172.47	62.42	----	172.49	62.51	----
24	37.37	36.58	45.22	36.96	36.84	45.16
24'	15.34	16.2	----	15.39	16.16	----
25	72.44	72.18	35.79	72.47	72.2	35.74
26	----	----	65.57	----	----	65.52
27	----	----	17.03	----	----	16.93
CH₃O-23'	51.77	----	----	51.73	----	----

Los compuestos furoespirostánicos obtenidos **58**, **59**, **62** y **63** se enviaron, junto con otros derivados esteroidales que pertenecen a un esquema de síntesis más completo, a estudios para determinar su actividad biológica como posibles inhibidores del crecimiento de células tumorales, citotóxicos, e inhibidores de la proliferación de hongos y levaduras.

CONCLUSIONES

- El tratamiento del acetato de las 23-oxo-sapogeninas diosgenina y tigogenina con diacetoxiodobenceno en KOH/MeOH produjo los derivados furoespiroestánicos (22,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3β-ol y (22,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5α-furostan-3β-ol, por medio de un reordenamiento de Favorskii, con rendimientos de moderados a buenos de 62 % y 97 % respectivamente.
- La reducción de los compuestos reordenados (22,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3β-ol y (22,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5α-furostan-3β-ol, por acción de LiAlH₄ en THF, produjo los dioles (22*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3β-ol y (22*S*,23*R*, 25*R*)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5α-furostan-3β-ol con rendimientos moderados de 63% y 43% respectivamente.
- Se obtuvieron los compuestos (25*R*)-3β-ol-5-en-espirostan-23-ona y (25*R*)-3β-ol-5α-espirostan-23-ona mediante hidrólisis básica de los acetatos de las 23-oxo-sapogeninas diosgenina y tigogenina, con rendimientos altos de 91% y 94%, respectivamente.
- La caracterización de los nuevos derivados furoespiroestánicos fue posible por técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H y ¹³C y EM (FAB).

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Djerassi, C. La píldora, los chimpancés pigmeos y el caballo de Degas. **1996**, Ed. Fondo de Cultura Económica, México. p.43-46.
2. Klyne, W. Química de los Esteroides. **1970**, Ed. CECSA, España. p. 9.
3. Alcaraz, G.F. Nomenclatura de química orgánica. **1991**. Vol. 35, edición ilustrada, Editum, Murcia, p. 143-145.
4. Solomons-Graham, T.W. Química Orgánica, **2004**, 2ª edición, Ed. Limusa Wiley, México, p. 1260-61, 1268.
5. Moss, G.P. Nomenclature of Steroids. *Pure & Appl. Chem.* **1989**, 61, (10), 1783-1822.
6. Makin, H.L.J.; Gower, D.B.; Kirk, D.N. Steroid Analysis. **1995**, Ed. Blackie Academic & Profesional. London. p. 1-4, 25, 26, 56-61.
7. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Gil, R.; Coll-Manchado, F. Aspectos de interés sobre la cadena lateral de las sapogeninas esteroidales. *CENIC Ciencias Químicas*. **1997**, 28, (2), 67-70.
8. Coffey, S. Rood's Chemistry of Carbon Compounds, **1971**, Vol. II (E), 2ª edición, London, p. 2-3.
9. Shaojiang, D.; Biao, Y.; Jianming, X.; Yongzheng, H. Highly Efficient Glycosylation of Sapogenins. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 7265-7266.
10. Anaya-Lang, A.L. Ecología Química. **2003**, Ed. Plaza y Valdés, S.A. de C.V., México. p. 55-57.
11. Coffey, S. Rood's chemistry of carbon compounds, **1971**, 2ª edición. Vol. II (D), London, p. 2-8.

12. Romo-de Vivar, A. Química de la Flora Mexicana. **2006**, Instituto de Química UNAM, México, p. 145, 147-148.
13. Marker, R.E.; Tsukamoto, T.; Turner, D.L. Diosgenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 2525-2532.
14. Marker, R.E.; Krueger, J. "Sterols. CXII. Sapogenins. XLI. The Preparation of Trillin and its Conversion to Progesterone". *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 3349-3350.
15. Marker, R.E.; Wagner, R.B.; Ulshafer, P.R.; Wittbecker E.L.; Goldsmith, D.P.J.; Ruof, C.H. Steroidal Sapogenins. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 2167- 2230.
16. Marker, R.E.; Wagner, R.B.; Ulshafer, P.R. Some New Sources of Diosgenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, *64*, 1283-1285.
17. Espejo, O.; Campos-Llavot, J.; Jung, H.; Giral, F. Spirostanic diosgenin from *Dioscorea composita* tubers. *Phytochemistry*. **1982**, *21*, 413-416.
18. Nava-Uriza, E. Sapogeninas esteroidales en algunas plantas mexicanas, **1953**, UNAM, p.10.
19. Marker, R.E.; Wagner, R.B.; Ulshafer, P.R.; Wittbecker E.L.; Goldsmith, D.P.J.; Ruof, C.H. New Sources for Sapogenins. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 2242.
20. Perron, F.; Albizati, K.F. Chemistry of Spiroketal. *Chem.Rev.* **1989**, *89*, 1617.
21. Joly, A.R.; Bonner, J.; Bennett, R.D.; Heftmann, E. The biosynthesis of steroidal sapogenins in *Dioscorea floribunda* from doubly labeled cholesterol. *Phytochemistry*, **1969**, *8*, 1709-1711.
22. Varma, K.R.; Wickramasinghe, J.A.F.; Caspi, E. Biosynthesis of Plant Sterols. IX. The mode of oxygenation at carbon atom 26 in the formation of sapogenins from cholesterol. *J. Biol. Chem.*, **1969**, *244*, 3951-3957.
23. Tomita, Y.; Uomori, A. Biosynthesis of sapogenins in tissue cultures of *Dioscorea tokoro makino*. *J. Chem. Soc.*, **1971**, 284.

24. Agrawal, P.K. Spectral Assignments and Reference Data. *Magn. Reson. Chem.* **2003**, *41*, 965-968.
25. Marker, R. E.; Rohrmann, E. The Structure of the Side Chain of Sarsasapogenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 846-851.
26. Marker, R.E.; Shabica, A.C. The structure of the Dibasic Acid Obtained by the Permanganate Oxidation of an hydrosarsasapogenoic acid. *J. Am. Chem. Soc.*, **1942**, *64*, 147-149.
27. Agrawal, P.K.; Jain, D.C.; Gupta, R.K.; Thakur, R.S. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins. *Phytochemistry*, **1985**, *24* (11), 2479-2496.
28. Saijo, R.; Fuke, C.; Murakami, K.; Nohara, T.; Tomimatsu, T. Two steroidal glycosides, aculeatiside A and B from *Solanum aculeatissimum*. *Phytochemistry*, **1983**, *22* (3), 733-736.
29. Ozipek, M.; Saracoglu, I.; Ogihara, Y.; Çalış, I. Nuatigenin-Type Steroidal Saponins from *Veronica fuhsii* and *V. multifida*. *Z. Naturforsch.*, **2002**, *57*, 603-608.
30. Iglesias-Arteaga, M.A.; Arcos-Ramos, R.O. One-step axial acetoxylation at C-23. A new method for the functionalization of the side chain of steroid sapogenins. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 8029-8031.
31. Marker, R. E.; Rohrmann, E. Reactions of Pseudosarsasapogenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1940**, *62*, 521-525.
32. Djerassi, C.; Halpern, O.; Pettit, G. R.; Thomas, G. H., Reaction of the Steroidal Sapogenin Spiroketal System with Ethanedithiol, *J. Org. Chem.*, **1959**, *24*, 1-6.
33. Fernández-Herrera, M.A.; Sandoval-Ramírez, J.; Meza-Reyes, S.; Montiel-Smith, S. Side-chain opening of steroidal sapogenins to form 22-oxocholestanic skeletons. An approach to analogues of the aglycone of the potent anticancer agent OSW-1. *J. Mex. Chem. Soc.* **2009**, *53*, 126-130.

34. Jastrzębska, I.; Morzycki, J.W. Unusual Baeyer-Villiger Oxidation of 23-Oxosarsasapogenin Acetate. *Polish J. Chem.*, **2005**, *79*, 1245.
35. Iglesias-Arteaga, M.A.; Velázquez-Huerta, G.A.; Méndez-Stivalet, J.M.; Galano, A.; Álvarez-Idaboy, R. The Baeyer-Villiger reaction of 23-oxosapogenins. *ARKIVOC*, **2005**, *vi*, 109-126.
36. Iglesias-Arteaga, M.I.; Pérez-Martínez, C.; Manchado-Coll, F. Spirostanic analogues of castasterone. *Steroids*, **2002**, *67*, 159-163.
37. Callow, R. K.; James, V. H. T.; Kennard, O.; Page, J. E.; Paton, P. N.; Sanseverino, R. L. The Structure of the Steroidal Bromosapogenins. *J. Chem. Soc.*, **1966**, *1*, 289-296.
38. Faul, W.H.; Failli, A.; Djerassi, C. Side-Chine Transformations and Deuterium Labeling in the Steroidal Sapogenin Series. *J. Org. Chem.*, **1970**, *35* (8), 2571-2584.
39. Wall, E.M.; Jones, H.W.; Side Chain Bromination Isomers of Diosgenin and Tigogenin. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *79*, 3222-3227.
40. Marker, R.E.; Rohrmann, E. Sarsasapogenin Derivatives. Bromo compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, *61*, 1921-1922.
41. Kutney, J. P.; Cretney, W.; Pettit, G. R.; Knight, J. C. Structure and Stereochemistry of the monobromotigogenins. *Tetrahedron*, **1964**, *20*, 1999-2006.
42. Ruíz-Pérez, K.M.; Romero-Ávila, M.; Flores-Pérez, B.; Flores-Álamo, M.; Moreno-Esparza, R.; Iglesias-Arteaga, M.A. Revisiting 23-iodospirostanes. New facts and full characterization. *Steroids*. **2009**, *74*, 996-1002.
43. Iglesias-Arteaga, M.A.; Velázquez-Huerta G.A. Favorskii rearrangement of 23-oxo-3-epi-smilagenin acetate induced by iodobenzene. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6897-6899.

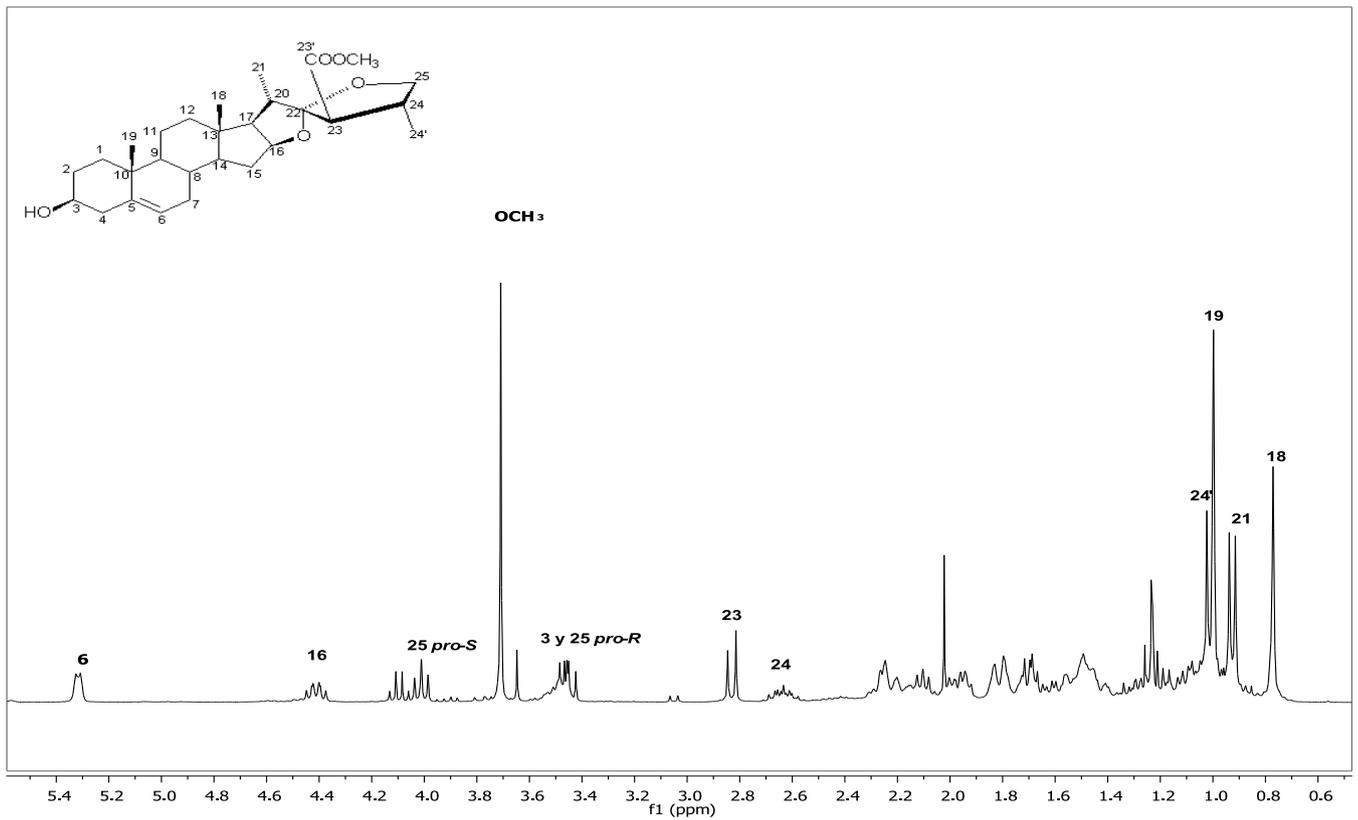
44. Jastrzębska, I.; Siergiejczyk, L.; Tomkiel, A.M.; Urbańczyk-Lipkowska, Z.; Wójcik, D.; Morzycki, J.W. On reactions of steroidal 23-oxo and 23,24-epoxysapogenins with Lewis acids. *Steroids*, **2009**, *74*, 675-683.
45. Hernández, R.; Marreto-Tellado, J.J.; Prout, K.; Suárez, E. Lewis acid-mediated isomerisation of (25R)-3b-acetoxy -5^a-spirostan-23-one, a C-22 spiroacetal: an approach to the synthesis of C-23 spiroacetal steroidal sapogenins. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**: 275-277.
46. Iglesias-Arteaga, M. I.; Arcos-Ramos, R. O.; Méndez-Stivalet, J. M. The unexpected course of the reaction of steroid sapogenins with dacetoxidobenzene and BF₃·EtO in formic acid. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, *48*, 7485-7488.
47. Cyrański, M. K.; Frelek, J.; Jastrzębska, I.; Morzycki, J.W. Rearrangement of 23-oxospirostanes to the 22-oxo-23-spiroketal isomers promoted by Lewis acids - X-ray crystal structure of (23R, 35S)-3β-acetoxy-16β;23:23,26-diepoxy-5β-cholestan-22-one. *Steroids*, **2004**, *69*, 395-400.
48. López, Y.; Santillán, R.; Farfán, N. New bisfuran derivative from sarsasapogenin. An X-ray and NMR analysis. *Steroids*, **2006**, *71*, 12-17.
49. Moriarty, R.M.; Prakash, I. Steric Effects in the Hypervalent Iodine Oxidation of Ketones. *Tetrahedron Lett.*, **1984**, *25* (51), 5867-5870.
50. Guijarro D.; Yus, M. The Favorskii Rearrangement: Synthetic Applications. *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 1713-1735.
51. Daum, S.J. A Favorskii Reaction Using Iodosobenzene. *Tetrahedron Lett.*, **1984**, *25* (42), 4725-4728.
52. Kirk, N. D.; Toms, H.C.; Douglas, C.; White, K. A. A Survey of the High-field ¹H NMR Spectra of the Steroid Hormones, their Hydroxylated Derivatives, and Related Compounds. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, **1990**, *2*, 1567-1594.

53. Eggert, H. Djerassi, C. ^{13}C NMR Spectra of sapogenins. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16 (42), 3655-3658.
54. Iglesias-Arteaga, M.A.; Pérez-Martínez, C.S.; Pérez-Gil, R.; Coll-Manchado, F. ^{13}C and ^1H NMR Spectra of Synthetic (25*R*)-5 α -Spirostanes. *J. Chem. Research (S)*, **1999**, 48-49.
55. Viñas-Bravo, O.; Hernández-Linares, G.; Mata-Esma, M.Y.; Martínez-Pascual, R. Montiel-Smith, S.; Meza-Reyes, S.; Bernès, S.; Sandoval-Ramírez, J.; Iglesias-Arteaga, M.A. ^1H and ^{13}C NMR of synthetic steroid sapogenins. Part II. C-23 Substituted derivatives of (25*S*)-spirostanes. *ARKIVOC*, **2003**, (xi), 163-171.
56. Patridge, L.G.; Djerassi, C. Mass Spectrometry in Structural and Stereochemical Problems 250. Characteristic Fragmentations of Cholesterol Acetate. *J. Org. Chem.*, **1977**, 42 (17), 2799-2805.
57. Chen, N.D.; Yue, L.; Zhang, J.; Kou, J.P.; Yu, B.Y. One unique steroidal sapogenin obtained through the microbial transformation of ruscogenin by *Phytophthora cactorum* ATCC 32134 and its potential inhibitory effect on tissue factor (TF) procoagulant activity. *Bioorg. Med. Chemm. Lett.*, **2010**, 20, 4015-4017.
58. Corbiere, C.; Liagre, B.; Bianchi, A.; Bordji, K.; Dauça, M.; Netter, P.; Beneytout, J.L. Different contribution of apoptosis to the antiproliferative effects of diosgenina and other plant steroids, hecogenina and tigogenina, on human 1547 osteosarcoma cells. *Int. J. Oncol.*, **2003**, 22, 899-905.
59. Trouillas, P.; Corbière, C.; Liagre, B.; Duroux, J.L.; Beneytout, J.L. Structure-function relationship for saponin effects on cell cycle arrest and apoptosis in the human 1574 osteosarcoma cells: a molecular modeling approach of natural molecules structurally close to diosgenin. *Bioorg. Med. Chemm.*, **2005**, 13, 1141-1149.
60. Raju, J.; Patlolla, J.M.R.; Swamy, M.V.; Rao, C.V. Diosgenin, a Steroid saponin of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek), Inhibits Azoxymethane-Induced Aberrant Crypt Foci Formation in F344 Rats and Induces Apoptosis in HT-29 Human Colon Cancer Cells. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **2004**, 13(8), 1392-1398.

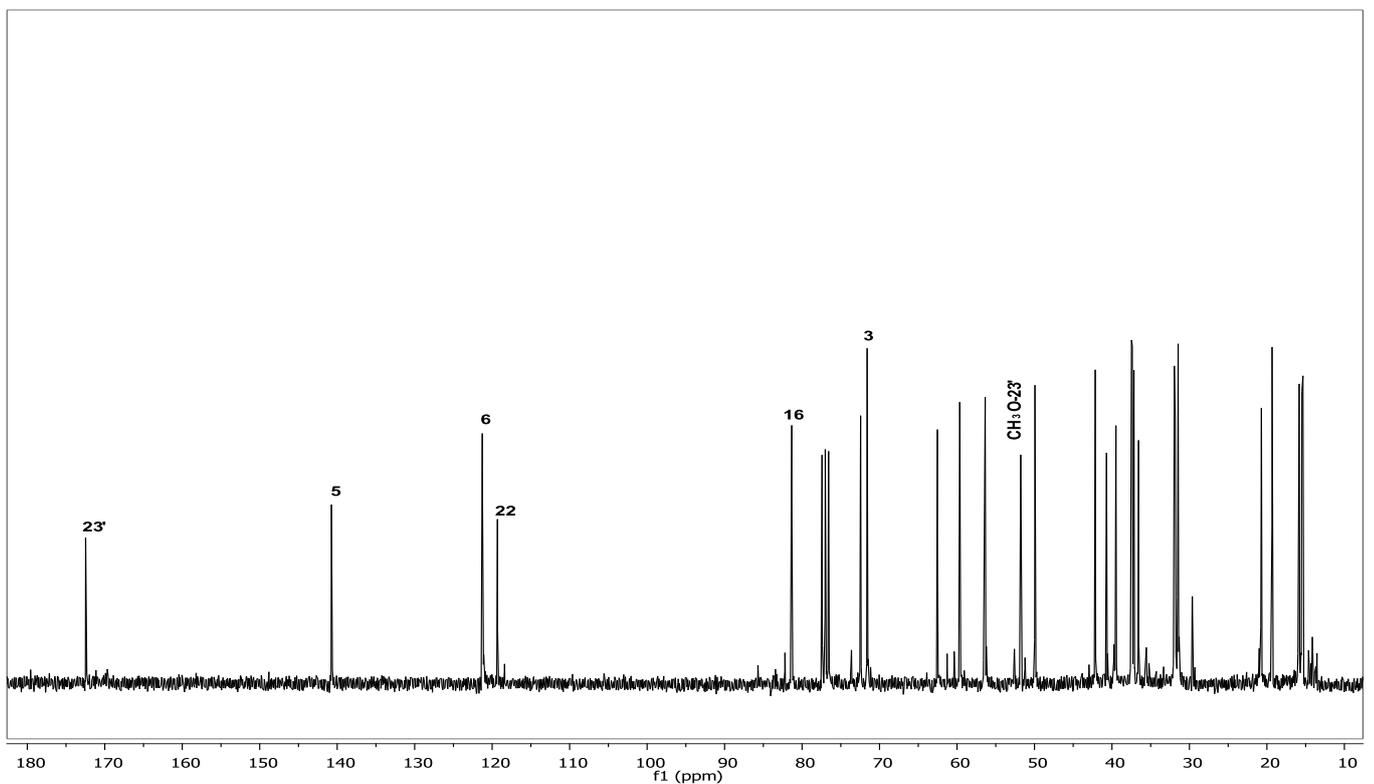
61. Raju, J.; Bird, R.P. Diosgenin, a naturally occurring furostanol saponin suppresses 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase expression and induces apoptosis in HCT-116 human colon carcinoma cells. *Cancer Lett.*, **2007**, *255*, 194-204.
62. Corbiere, C.; Liagre, B.; Terro, F.; Beneytout, J.L. Induction of antiproliferative effect by diosgenina through activation of p53, release of apoptosis-inducing factor (AIF) and modulation of caspase-3 activity in different human cancer cells. *Cell Research*, **2004**, *14*(3), 188-196.
63. Lee, J.; Jung, K.; Shik-Kim, Y.; Park, D. Diosgenin inhibits melanogenesis through the activation of phosphatidylinositol-3-kinase pathway (PI3K) signaling. *Life Sciences*, **2007**, *81*, 249-254.
64. Liagre, B.; Vergne-Salle, P.; Corbiere, C.; Charissoux, J.L.; Beneytout, J.L. Diosgenin, a plan steroid, induces apoptosis in human rheumatoid arthritis synoviocytes with cyclooxygenase-2 overexpression. *Arthritis Res. Ther.*, **2004**, *6* (4), R373-R383.
65. Romero-Ávila, M.; de Dios-Bravo, G.; Méndez-Stivalet, J.M.; Rodríguez-Sotres, R.; Iglesias-Arteaga, M.A. Synthesis and biological activity of furostanic analogues of brassinosteroids bearing the 5 α -hydroxy-6-oxo moiety. *Steroids*, **2007**, *72*, 955-959.
66. González, N.; Barral, M.A.; Rodríguez, J.; Jiménez, C. New cytotoxic steroids from the gorgonian *Isis hippuris*. Structure-activity studies. *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 3487-3497.
67. Shaojiang, D.; Biao, Y.; Yun, L.; Yongzheng, H. First Total Synthesis of an Exceptionally Potent Antitumor Saponin, OSW-1. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 202-208.
68. Agrawal, P.K.; Bunsawansong, P.; Morris, G.A.; Dependence of the ^1H RMN chemical shifts of ring f resonances on the orientation of the 27-methyl group of spirostane-type steroidal saponins. *Phytochemistry*. **1998**, *47*, (2), 255-257.
69. Blunt, J.W.; Stothers, J.B. ^{13}C RMN Spectra of Steroid – A Survey and Commentary. *Org. Mag. Res.* **1977**, *9*, (8), 439-463.

70. Iglesias-Arteaga, M.A.; Alvarado-Nuño, A. $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ -induced Beckmann rearrangement of 23-hydroxyiminosapogenins. A shortcut to bisnorcholanolic lactones. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 5351-5353.
71. Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle, D.J. Spectrometric Identification of Organic Compounds, **2005**, 7^a edición, Ed. John Wiley & Sons, Inc., USA. p. 219.
72. Iglesias-Arteaga, M.; Sandoval-Ramírez, J.; Mata-Esma, M.; Viñas-Bravo, O. Bernés, S. Abnormal Beckmann rearrangement in 23-hydroximinodiosgenin acetate. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45 (25), 4921-4926.
73. López, Y.; Ruíz-Pérez, K.; Yépez, R.; Santillán, R.; Flores-Alamo, M.; Iglesias-Arteaga, M. Mechanistic insights and new products of the reaction of steroid sapogenins with NaNO_2 and $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ in acetic acid. *Steroids*, **2008**, 73, 657-668.

A N E X O S

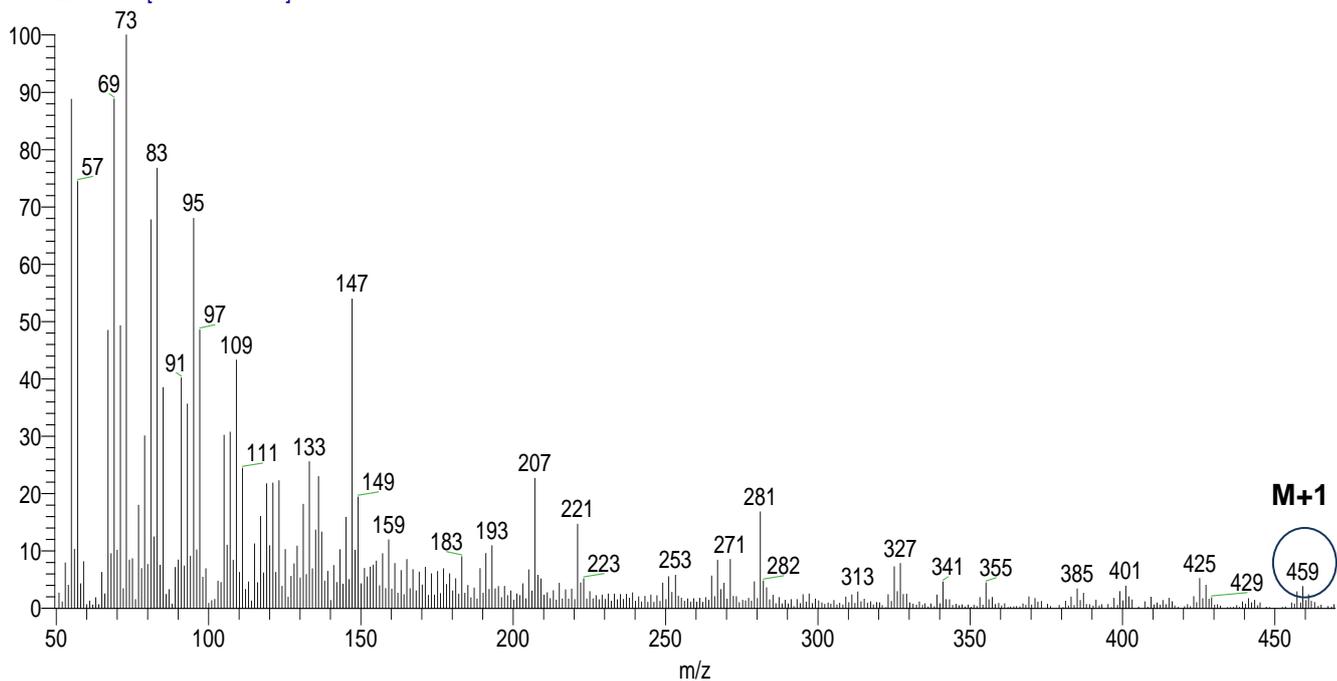


ANEXO 1. Espectro de RMN de ^1H a 300 MHz del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en- 3 β ol (**58**) en CDCl_3 .

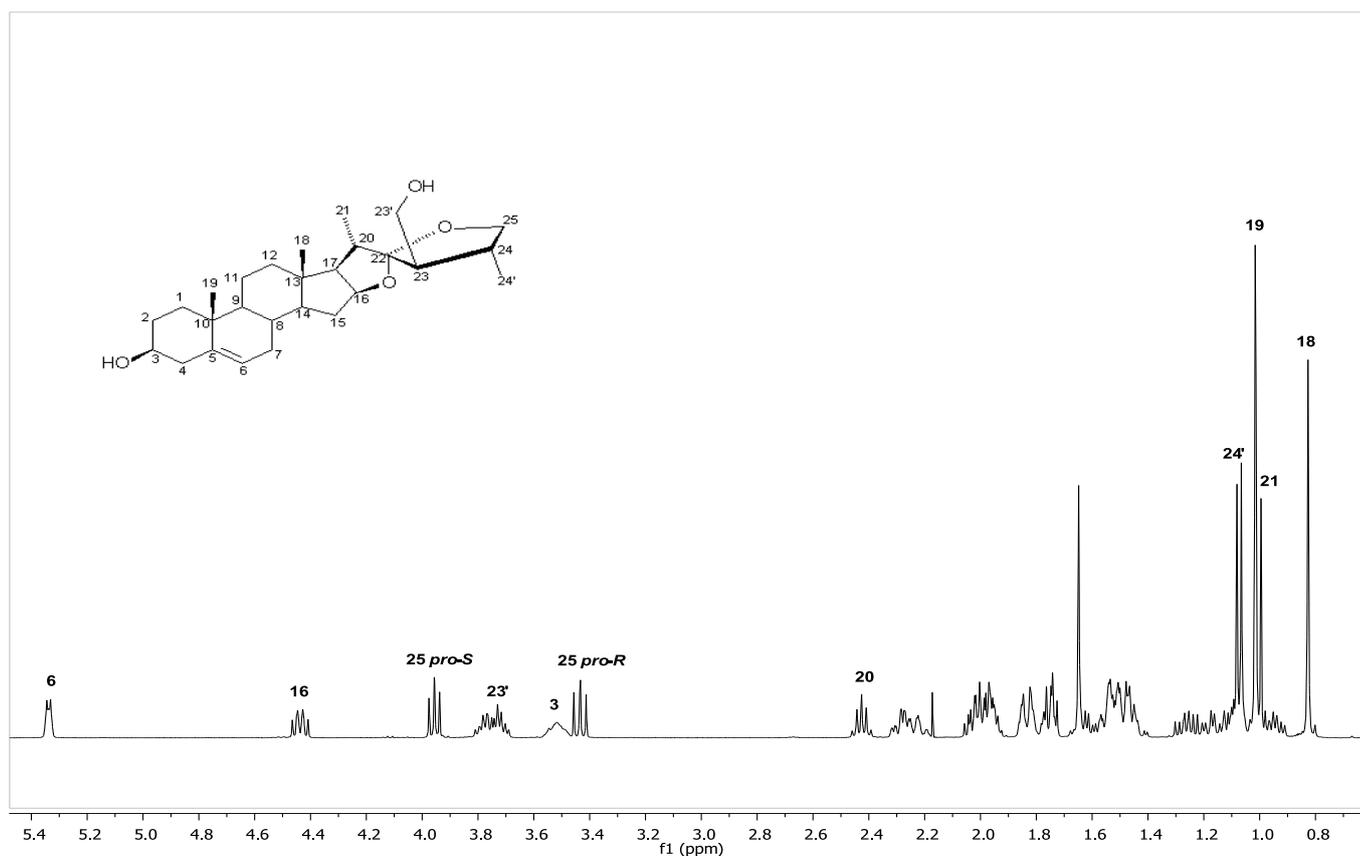


ANEXO 2. Espectro de RMN de ^{13}C a 75.5 MHz del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,26-epoxi-24-nor-5-en-furostan-3 β -ol (**58**) en CDCl_3 .

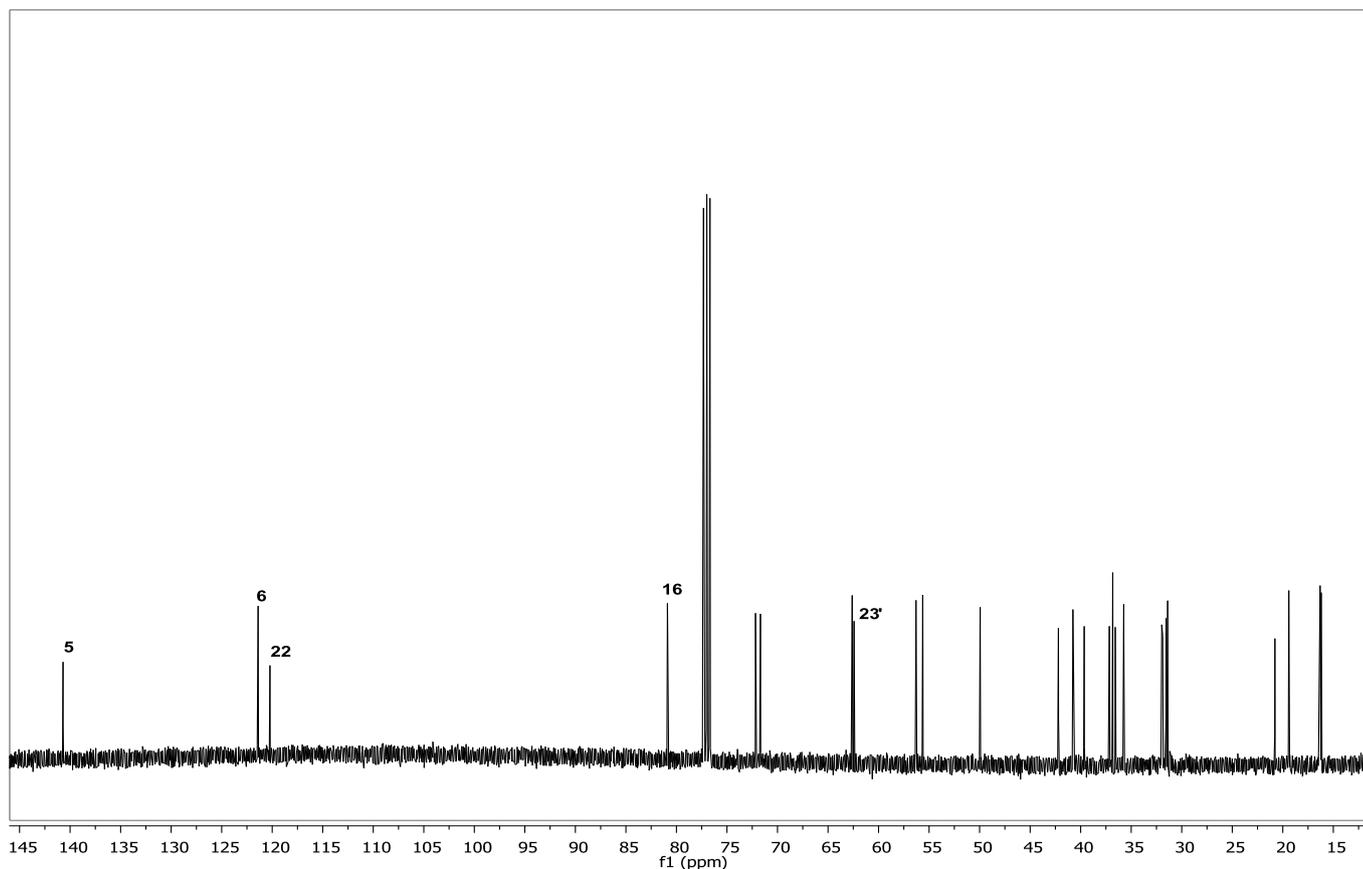
OT4366_1 #1-4 RT: 0.00-0.67 AV: 4 NL: 8.38E5
T: + c FAB Full ms [49.50-1000.50]



ANEXO 3. Espectro de EM (FAB⁺) del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en- 3 β ol (**58**).

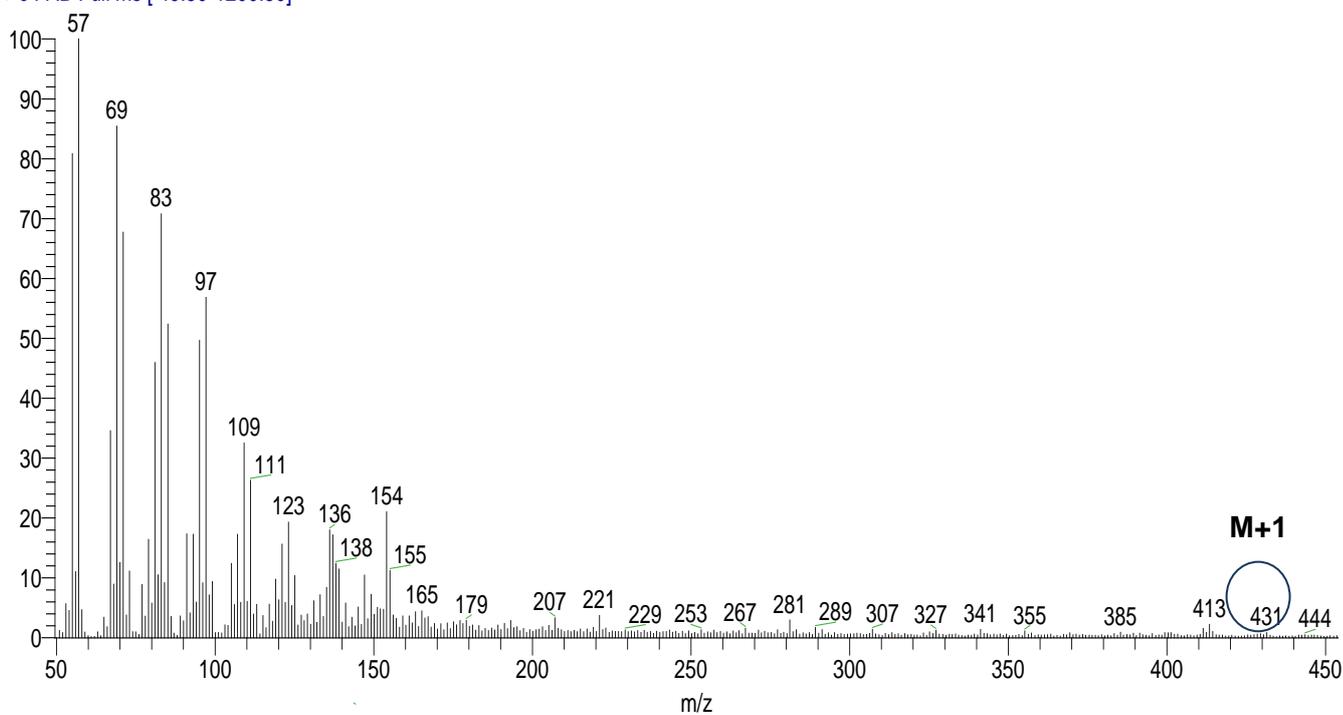


ANEXO 4. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3 β -ol (**59**). en CDCl₃.

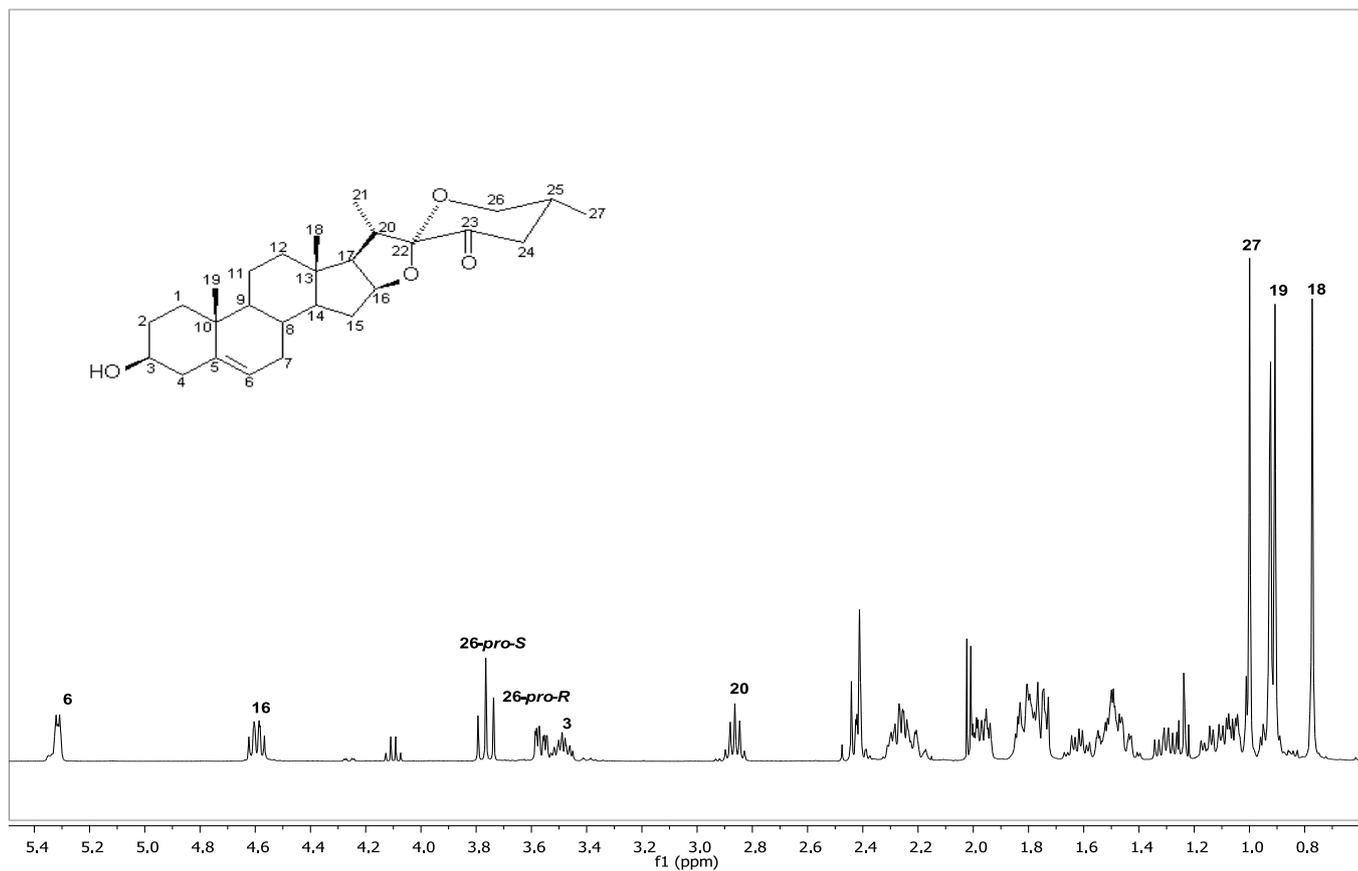


ANEXO 5. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del compuesto ((2*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroxi-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3 β -ol (**59**)) en CDCl_3

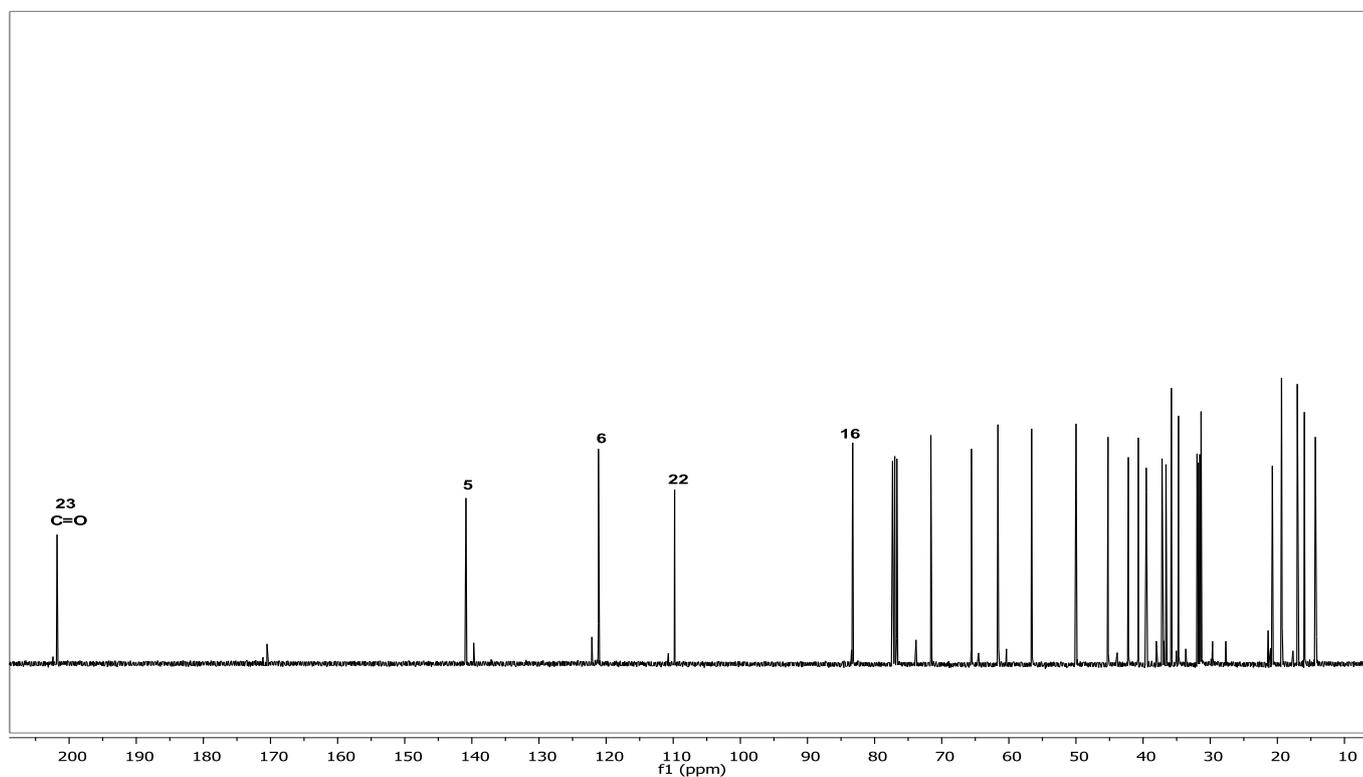
OT4367_1 #1-3 RT: 0.00-0.47 AV: 3 NL: 1.81E7
 T: + c FAB Full ms [49.50-1200.50]



ANEXO 6. Espectro de EM (FAB $^+$) del compuesto ((2*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroxi-22,25-epoxi-26,27-dinorfurost-5-en-3 β -ol (**59**)).

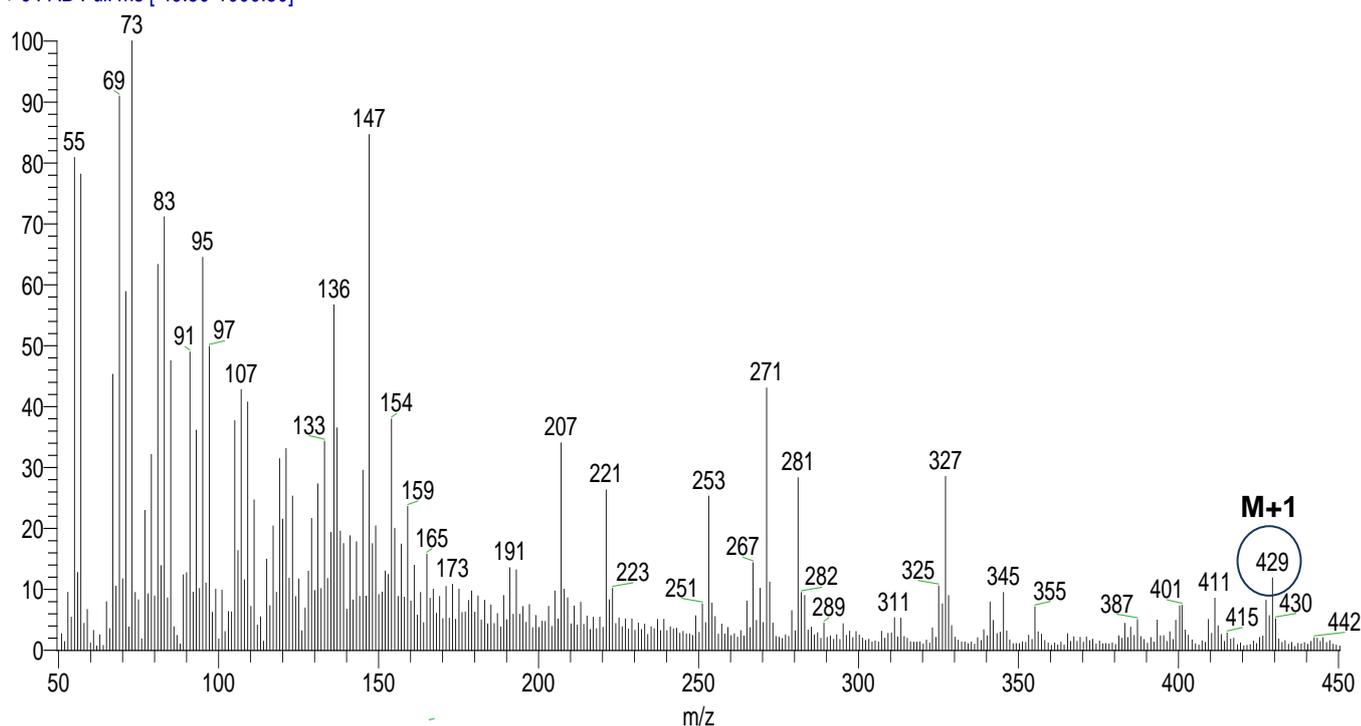


ANEXO 7. Espectro de RMN de ^1H a 400MHz del compuesto (25R)-3β-ol-5-en-estriano-23-ona (**60**) en CDCl_3 .

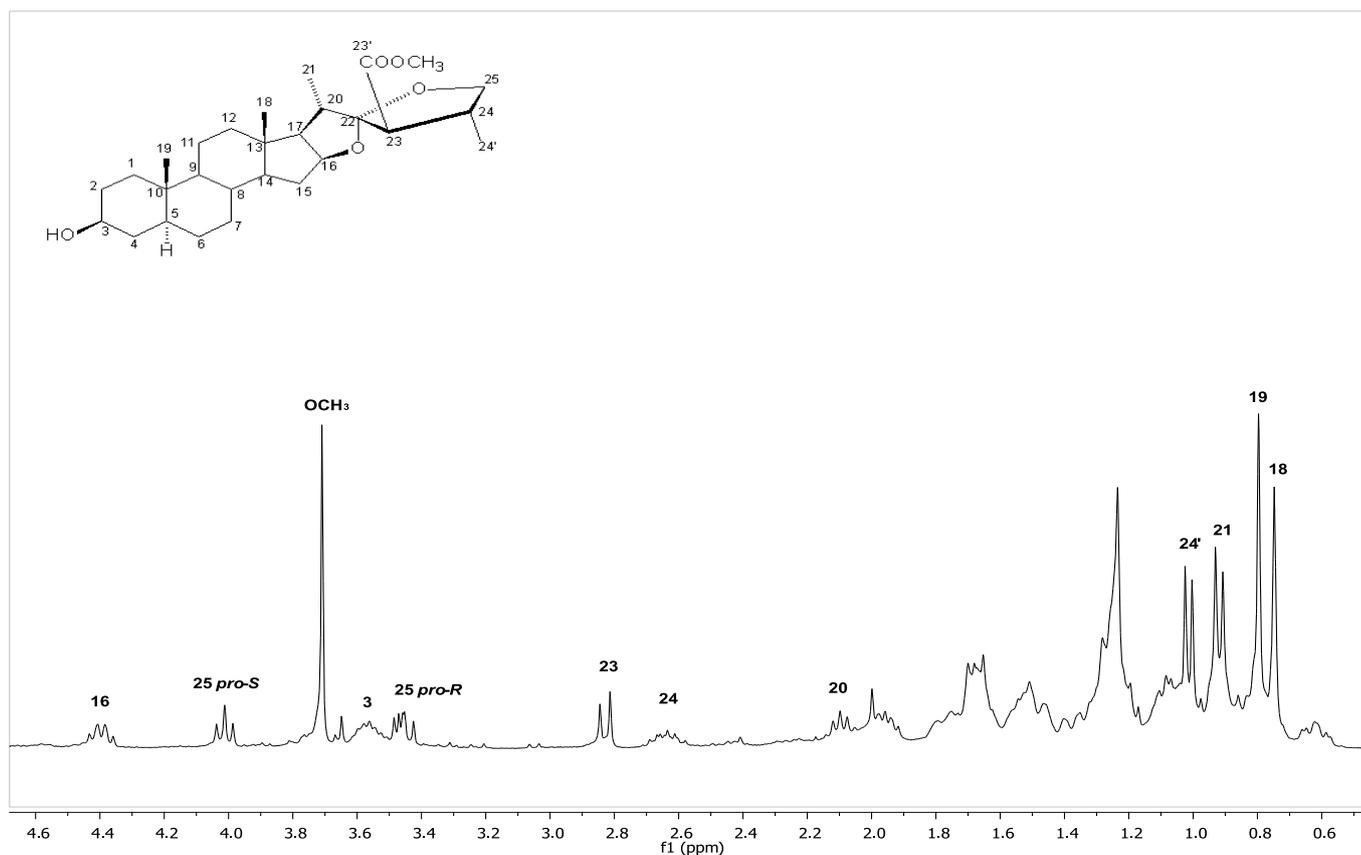


ANEXO 8. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del compuesto (25R)-3β-ol-5-en-estriano-23-ona (**60**) en CDCl_3 .

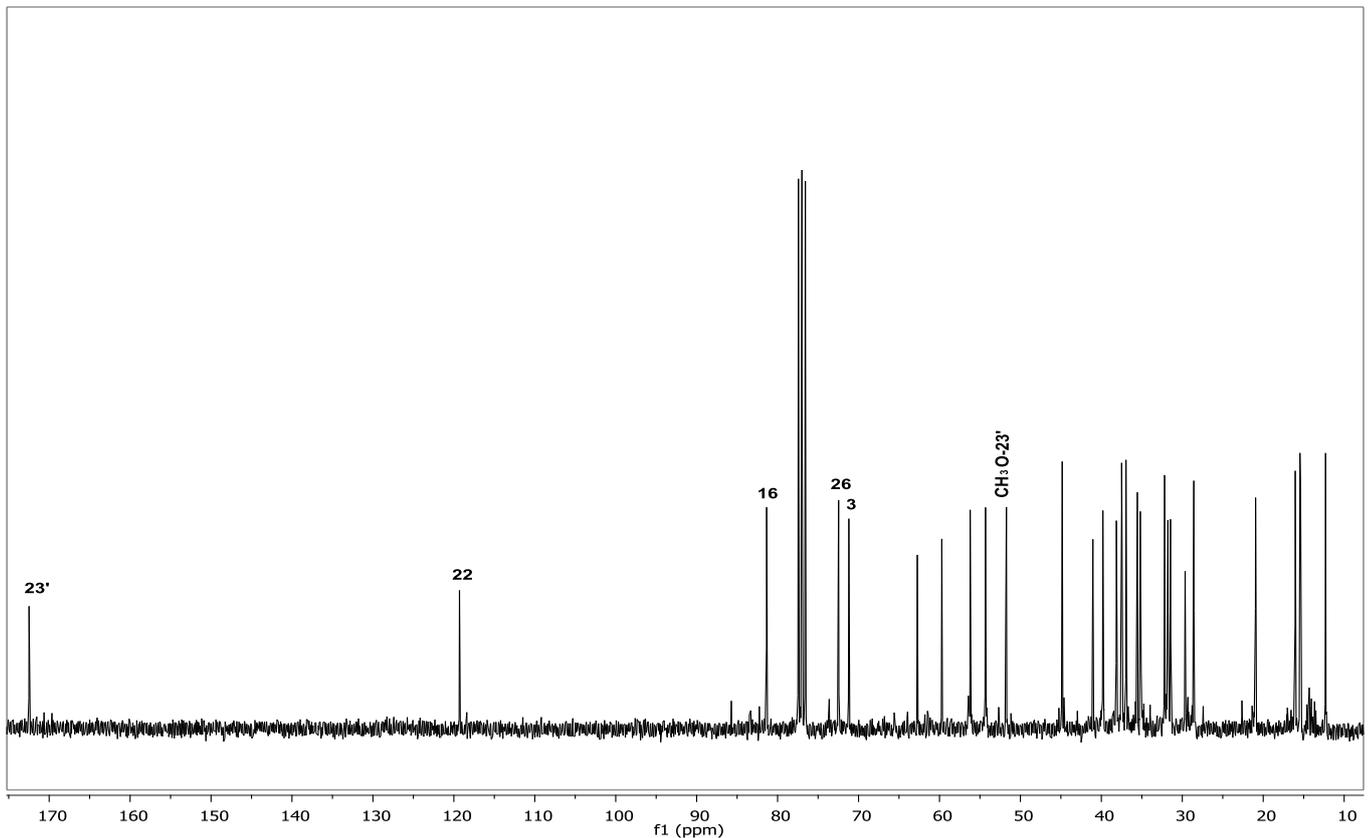
OT4362_1 #1-4 RT: 0.00-0.67 AV: 4 NL: 2.25E6
T: + c FAB Full ms [49.50-1000.50]



ANEXO 9. Espectro de EM (FAB⁺) del compuesto (25*R*)-3β-ol-5-en-espirostan-23-ona (**60**).

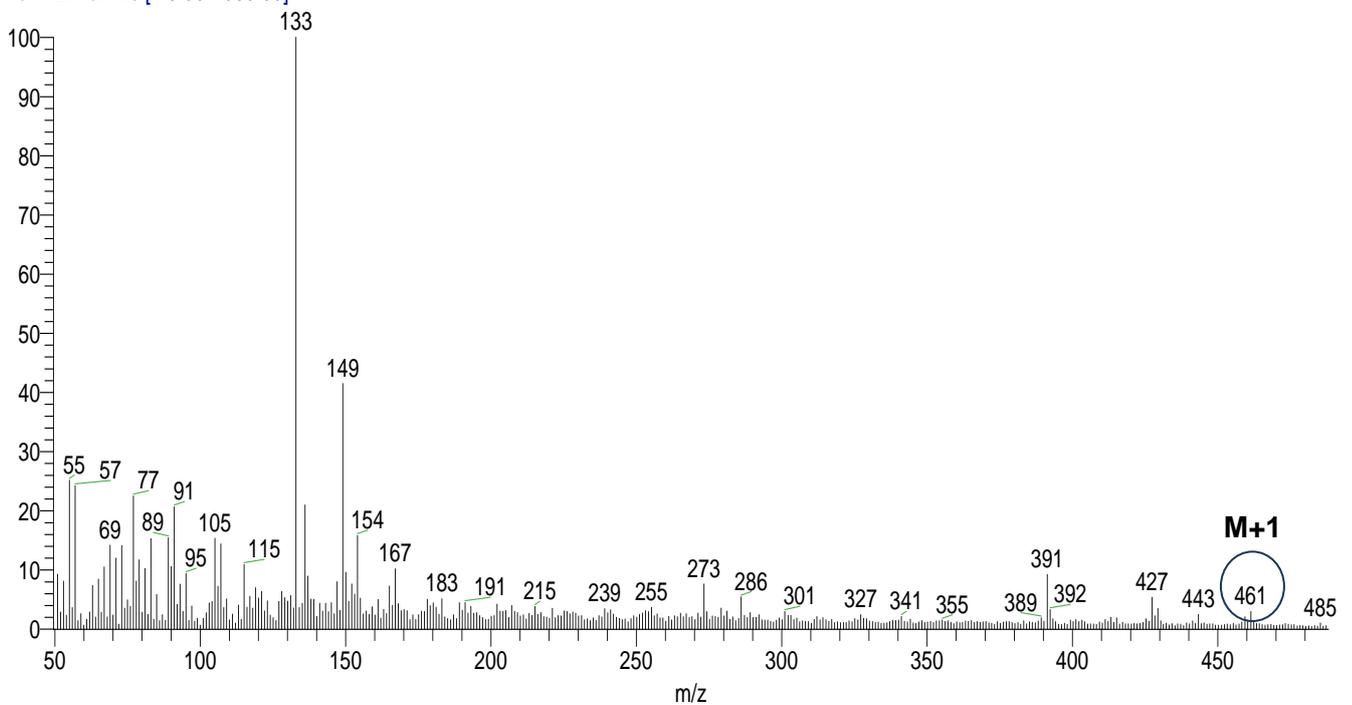


ANEXO 10. Espectro de RMN de ¹H a 300 MHz del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5α-furostan-3β-ol (**62**) en CDCl₃.

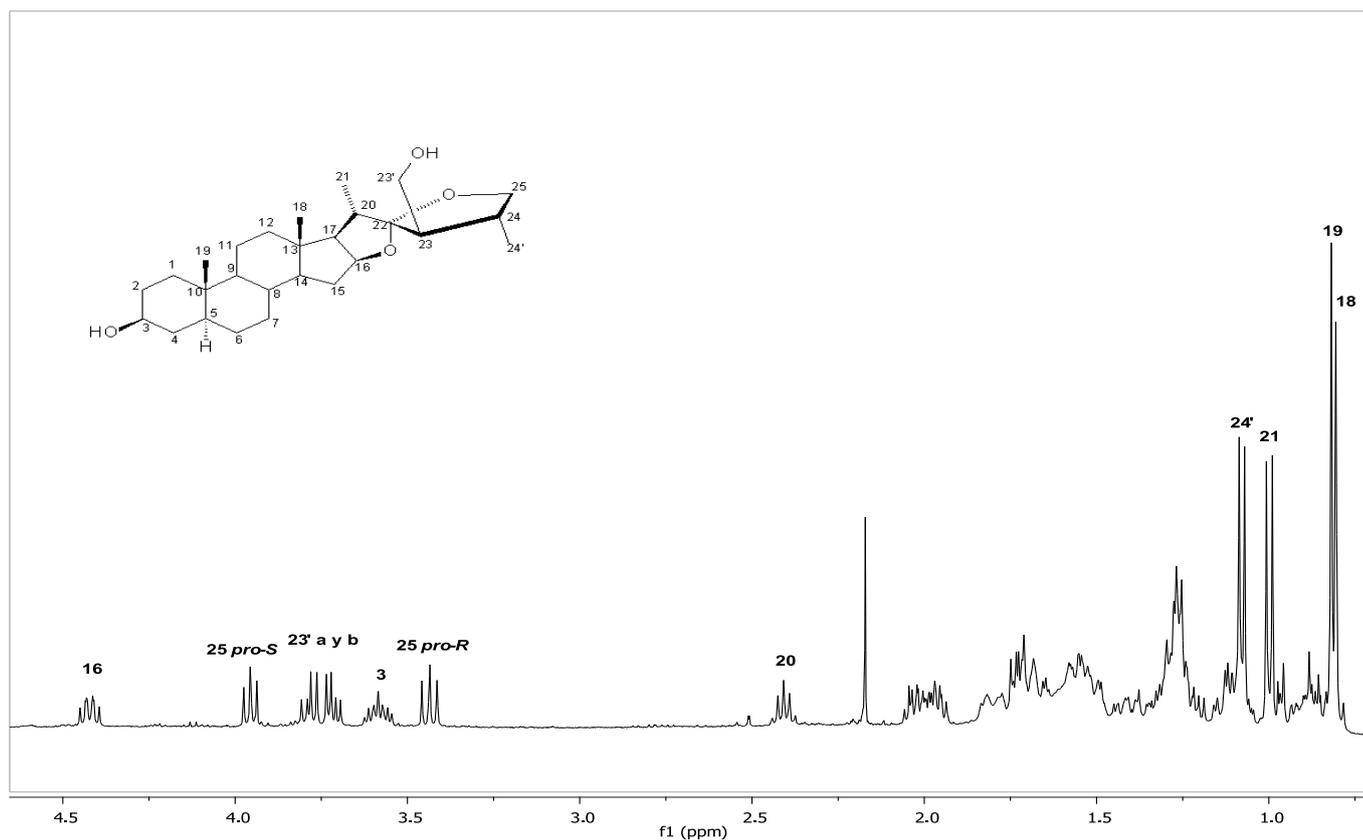


ANEXO 11. Espectro de RMN de ^{13}C a 75.5 MHz del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5 α -furostan-3 β -ol (**62**) en CDCl_3 .

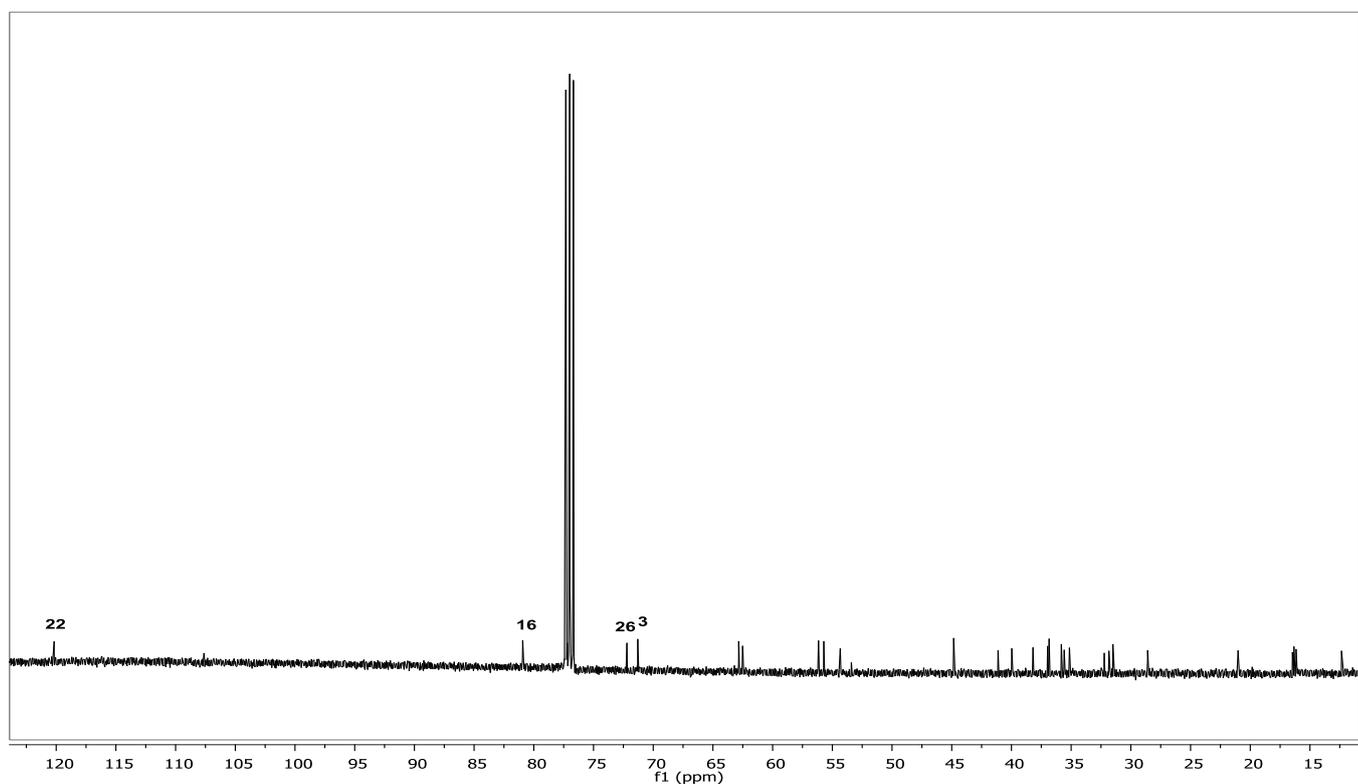
OT4363_1 #1-4 RT: 0.00-0.67 AV: 4 NL: 1.24E6
 T: + c FAB Full ms [49.50-1000.50]



ANEXO 12. Espectro de EM (FAB^+) del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-metoxicarbonil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5 α -furostan-3 β -ol (**62**).

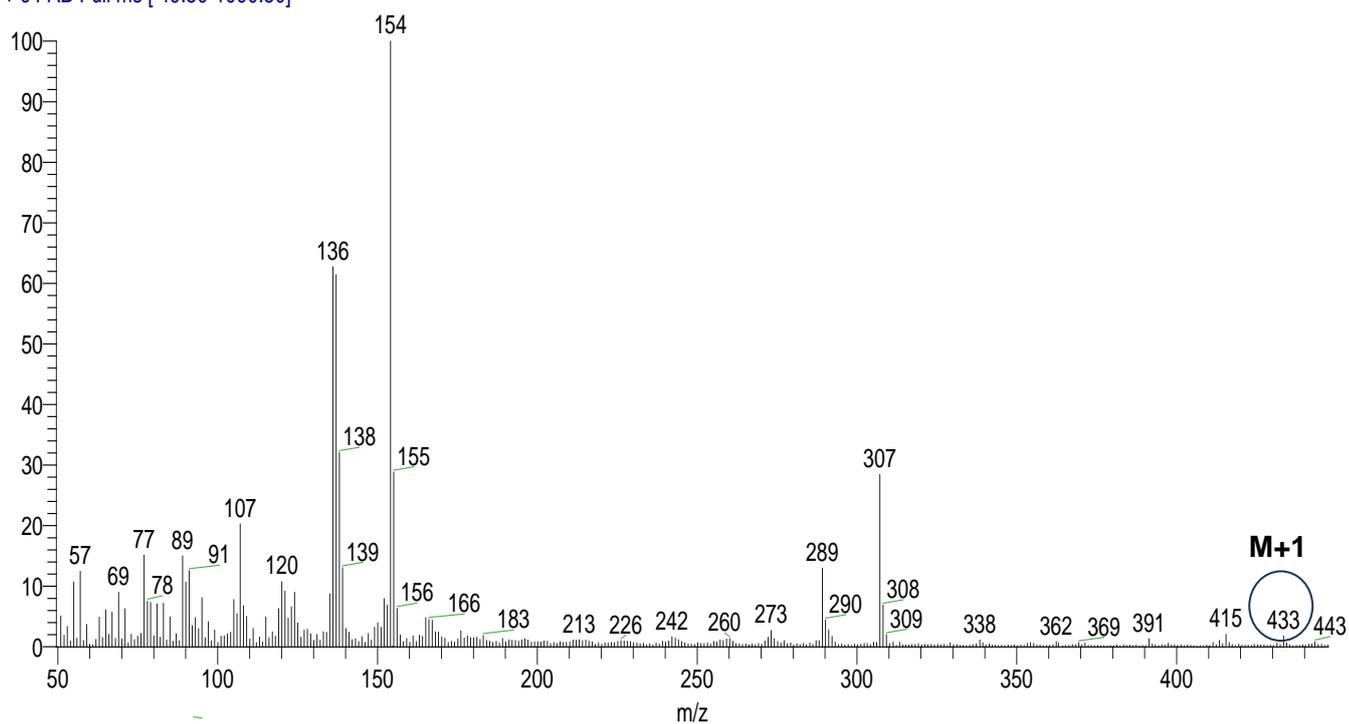


ANEXO 13. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroxi-metil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5- α -furostan-3 β -ol (**63**) en CDCl₃/MeOH.

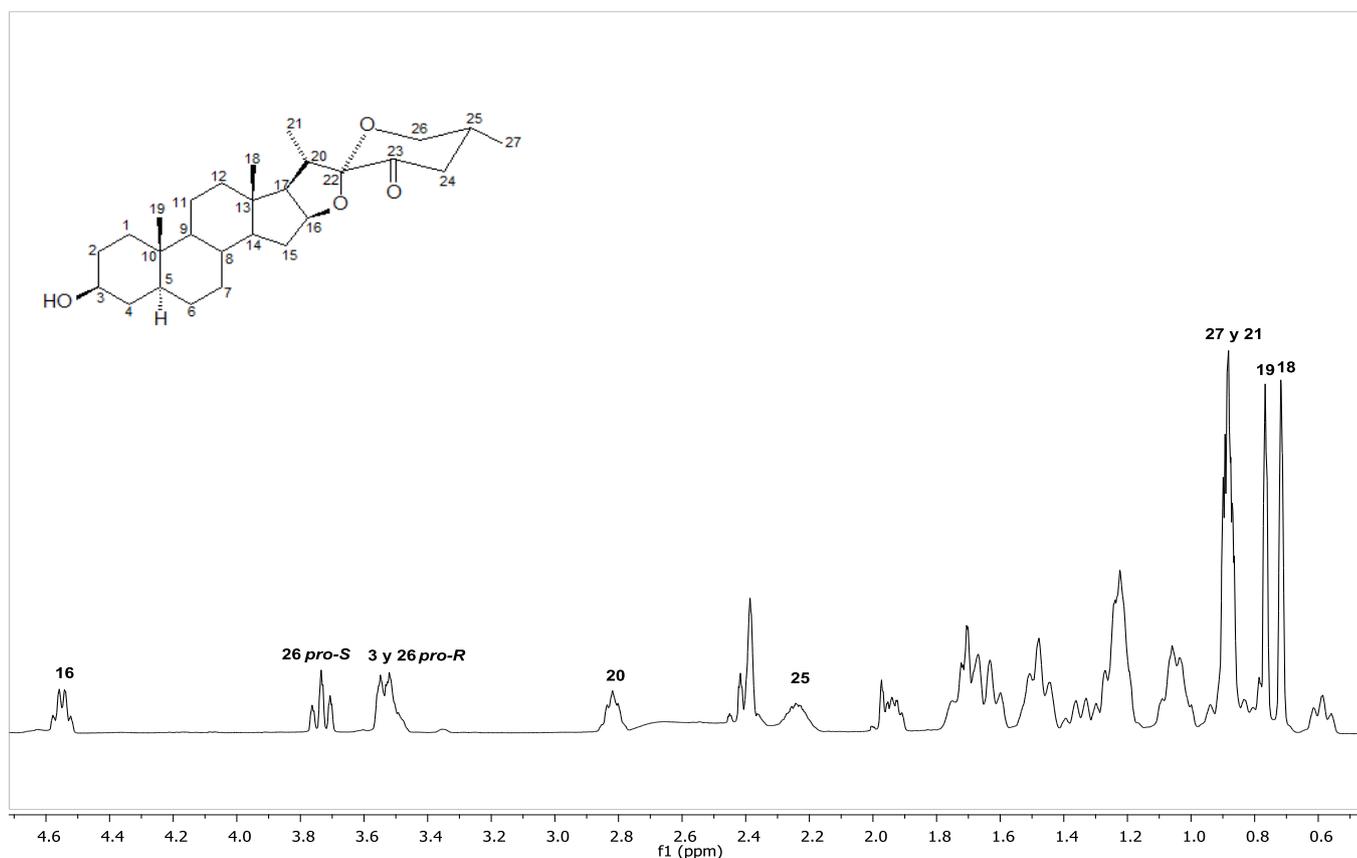


ANEXO 14. Espectro de RMN de ¹³C a 100 MHz del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroxi-metil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5- α -furostan-3 β -ol (**63**) en CDCl₃.

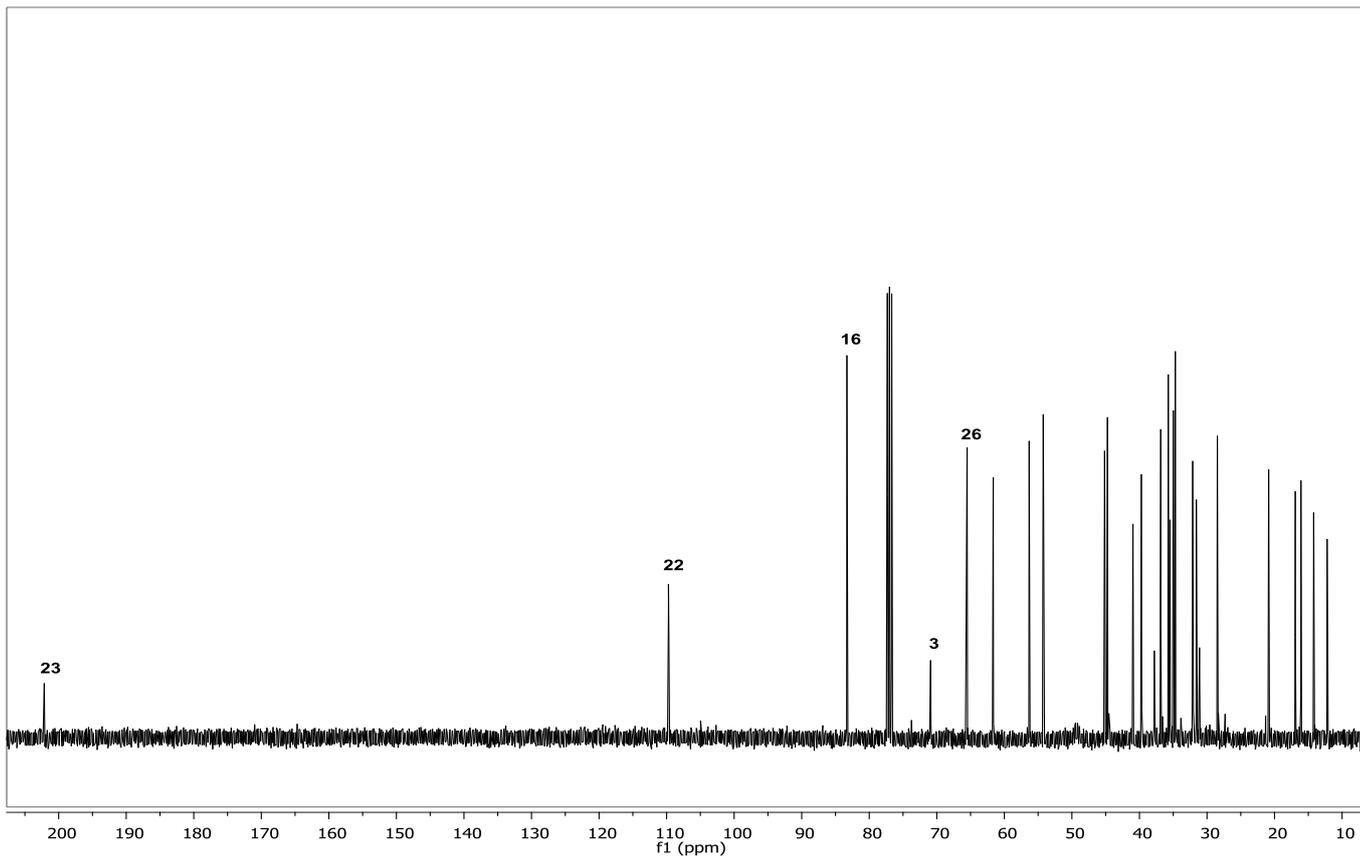
OT4364_1 #1-4 RT: 0.00-0.67 AV: 4 NL: 1.65E7
T: + c FAB Full ms [49.50-1000.50]



ANEXO 15. Espectro de EM (FAB⁺) del compuesto (22*S*,23*R*,25*R*)-23-hidroximetil-22,25-epoxi-26,27-dinor-5- α -furostan-3 β -ol (**63**).

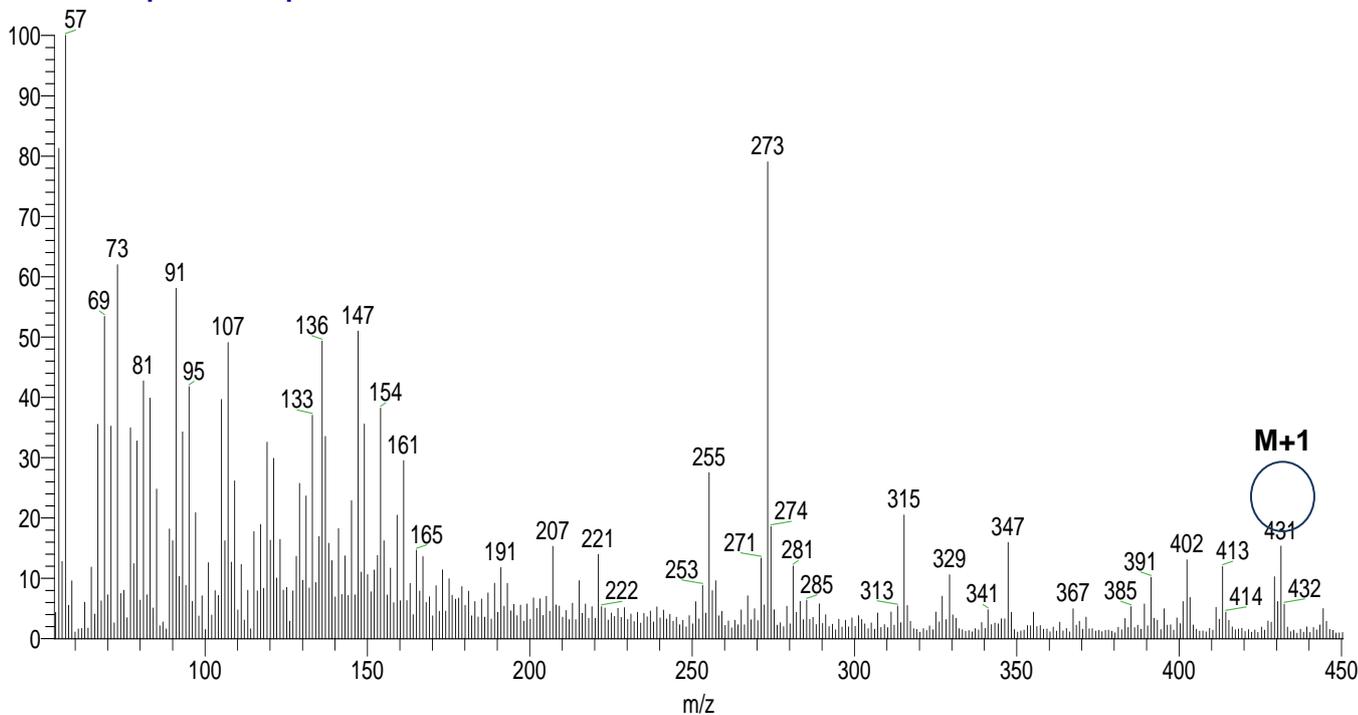


ANEXO 16. Espectro de RMN de ¹H a 400 MHz del compuesto (25*R*)-3 β -ol-5 α -espirostan-23-ona (**64**) en CDCl₃.



ANEXO 17. Espectro de RMN de ^{13}C a 100 MHz del compuesto (25*R*)-3β-ol-5α-estri-23-ona (**64**) en CDCl_3 .

OT4365_1 #1-4 RT: 0.00-0.67 AV: 4 NL: 3.02E6
 T: + c FAB Full ms [49.50-1000.50]



ANEXO 18. Espectro de EM (FAB^+) del compuesto (25*R*)-3β-ol-5α-estri-23-ona (**64**).